

## 新規心不全治療薬としての核内受容体作動性遺伝子制御薬剤の開発に関する研究

所属 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部  
研究者 佐藤 陽治

### 要旨

甲状腺ホルモン誘導体 DITPA の心収縮増強作用選択性の機序を探る目的で、培養心筋細胞の遺伝子発現への効果を検討し、各種イオンチャネル遺伝子発現に対する作用が内因性甲状腺ホルモンと異なることが収縮力選択性の原因の一つであることが示唆された。

### 1. 研究目的

心不全において、心筋細胞の筋小胞体カルシウム制御の異常が心筋収縮および弛緩の異常に密接にかかわっている。不全心筋においては心筋小胞体カルシウム制御遺伝子の発現異常とくに心筋小胞体カルシウムポンプの遺伝子およびタンパク質発現の低下が高頻度で観察され、これが筋小胞体カルシウム制御異常、心筋細胞形態異常および心筋収縮性異常の主原因の一つだと近年考えられるようになった。従って心不全における心機能低下を改善する有効な戦略として筋小胞体カルシウムポンプの遺伝子発現量および活性の回復を目指す戦略が考えられる。この戦略が拡張型心筋症および肥大型心筋症モデル動物において著効を奏することは最近、本研究担当者を含むグループの遺伝子改変技術を応用した研究により明らかにされている。現在、病態心筋に対して筋小胞体カルシウムポンプ遺伝子をウィルスベクターに組み込み心筋に導入する遺伝子治療的方法が試みられているが、ベクターの安全性と作用の組織特異性および投与方法の問題が実用化への大きな障害となっている。本研究ではこれとは別のアプローチ法として心筋小胞体カルシウムポンプの遺伝子発現および活性を特異的に調節する薬剤の探索法、薬理学的解析法の確立を目指す。

甲状腺ホルモン刺激は核内受容体を介して全身の多様な遺伝子転写調節作用を持つが、中でも心臓は甲状腺ホルモン核内受容体刺激に最も敏感な器官である。心筋細胞の筋小胞体カルシウムポンプ遺伝子は、甲状腺ホルモン核内受容体刺激によって強く転写が亢進する。従って心筋小胞体カルシウムポンプ発現量が低い不全心に対して甲状腺ホルモン刺激を加えることにより、カルシウムポンプ発現量低下がオフセットされ、細胞内カルシウム動態および心筋収縮性改善することが期待される。しかし、甲状腺ホルモンには心拍数増加とそれに伴う心筋酸素消費量増加をもたらす副作用があり、甲状腺ホルモンの心疾患への適用上の大きな問題点となってきた。

甲状腺ホルモン誘導体 DITPA (3,5-diiodothyropropionic acid) は内因性甲状腺ホルモン同様、強い心筋収縮性増強作用をもつ。DITPA に特徴的な点として心拍上昇作用よりも筋収縮性増強作用に幾分選択的なリガンドである事が知られているが、この選択性の分子薬理的なメカニズムは全く不明である。ごく最近、内因性甲状腺ホルモンの心拍数増加作用に深く関わるペースメーカーチャネル (HCN) 遺伝子が単離された。本研究ではまず DITPA の選択性が、HCN 遺伝子よりも筋収縮関連遺伝子に対して選択的に作用することによるという仮説を立てこれを検証した。(平成 13 年度)。心臓の興奮性には HCN チャネル以外にも様々なイオン輸送体 (イオンチャネル、イオントランスポーター) および cAMP 等の細胞内情報伝達物質も重要な働きをしている。そこで、DITPA と内因性甲状腺ホルモンの心筋細胞における遺伝子発現の差をマイクロアレイにより網羅的に解析した (平成 14 年度)。今後は、内因性甲状腺ホルモンと DITPA の遺伝子発現調節作用の差をもたらす機序をリガンド-核内受容体-遺伝子複合体の挙動のレベルで評価する。また、DITPA の心筋病態への有効性を評価する目的で、心疾患モデル動物を用いて DITPA の心筋病態に対する効果を検討する (平成 15 年度)。これらの検討から DITPA よりもさらに心収縮に選択的な新規甲状腺受容体リガンドを探索するスクリーニング法の確立を目指すとともに、核内受容体を介した遺伝子制御による心収縮調節薬という新しいコンセプトに基づく心不全治療の可能性を明らかにする。

### 2. 研究方法

#### (A) 初代培養心筋細胞における甲状腺ホルモン受容体リガンドの遺伝子発現調節作用

迅速かつ効率的に甲状腺ホルモン受容体リガンドの遺伝子発現パターンを評価するために、初代培養心筋細胞を用いた系を確立し、心筋収縮および心拍数に密接に関連する遺伝子の発現に対する内因性甲状腺

ホルモンおよびDITPAの作用を定量性リアルタイムRT-PCRおよびマイクロアレイによって評価した。

a) 新生仔ラット心筋細胞の培養

1日齢SD系ラットから心筋細胞をNishida *et al.* (2000)の方法により採取・培養した。単離から3日目に、内因性甲状腺ホルモン3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T3)もしくはDITPAを投与し、薬物処置24時間後にtotal RNAを回収した。

b) リアルタイムRT-PCR

特異的mRNAを定量する目的でRT-PCR反応における標的配列特異的増幅過程をTaqMan™プローブおよびABI Prism7700 (Applied Biosystems)を用いてモニターし、心筋細胞中の遺伝子発現量を測定した。サンプル中の18S rRNA量を内部標準し、測定値は薬物非処置群に対する比として計算した。

c) マイクロアレイ解析

培養心筋細胞から抽出したtotal RNAを逆転写することにより得られたcDNAよりビオチン標識cRNAを調製した。cRNAを断片化した後、ハイブリダイゼーションオープンを使用してGeneChip発現解析用プローブアレイ (GeneChip Rat Genome U34 A Array, Affymetrix) にハイブリダイズさせ、GeneChip Fluidics Station 400 (Affymetrix) を用いてストレプトアビジン-フィコエリスリン染色およびその洗浄を行った。プローブアレイに結合したフィコエリスリンの蛍光をGeneArray スキャナー (Affymetrix)を用いて測定し、プローブアレイ上のプローブに対応した遺伝子の発現量を定量した。

(B) 甲状腺ホルモンの急性効果の検討

心筋細胞において甲状腺ホルモンは核内受容体を介しての遺伝子調節作用の他に、投与後数分から数十分の急性期におこる核内受容体を介さない、所謂 Non-Genomic 作用を示すことが知られているが、その作用機序は不明である。このため、甲状腺ホルモン誘導体を臨床応用する場合において Non-Genomic 作用の影響が予測できない点で問題である。最近、CV-1細胞やHeLa細胞では内因性甲状腺ホルモンは Non-Genomic 作用としてMAPキナーゼの一種、ERK1/2を活性化することが報告されている。そこで本研究者は甲状腺ホルモンの心筋細胞における Non-Genomic 作用のメカニズムを明らかにする目的で、胎児ラット心室筋由来のH9C2細胞に甲状腺ホルモンを投与し、ERK1/2を中心とする情報伝達関連分子の急性期における活性化をリン酸化特異的抗体のイムノブロットにより検討した。

(C) 肥大型心筋症モデルマウスの表現型に対する加齢の影響

甲状腺ホルモン誘導体の心筋病態への有効性を評価する目的で各種の病態モデル動物の使用を予定している。この際、モデルの表現系を詳しく理解し、ヒト病態との相溶性および相違点を把握することは極めて重要と考えられる。肥大型心筋症患者の予後は多くの場合良好であるが、時として加齢により非代償性心筋拡張およびこれに伴う心不全を起こすことが知られている。当研究では本研究者の作製した心筋特異的にカルセクエストリンを20倍過剰発現したマウスを肥大型心筋症モデルとして使用することを予定しているが、このモデルとは別にJones *et al.* (1998)によっても同様なカルセクエストリン過剰発現マウス(10倍)が作製されている。Jones *et al.*のモデルは本研究者のモデルよりもカルセクエストリン発現量が少ないにも関わらず、生後16週間までに心不全により死亡してしまう。これに対し本研究者のモデルは3ヶ月令では死亡率増加は認められないといった相違点がある。この差が単に病態の進行速度の差であるかどうかを検討するために、本研究者のモデルにおける心筋表現型の加齢(2~3ヶ月 vs. 17ヶ月齢)による変化を形態学的、分子生物学的および生理学的側面から評価した。

(D) 倫理面への配慮

本研究を遂行するにあたり、動物の取り扱いに関しては「国立衛生試験所動物実験に関する指針」(平成元年4月国立衛生試験所動物実験委員会)、「動物実験に関する日本薬理学会指針」(日本薬理学会)および「大学等における動物実験について(通知)」(昭和62年5月25日 文学情第141号 文部省学術国際局長)を遵守した。

### 3. 研究成果

(A) 初代培養心筋細胞における甲状腺ホルモン受容体リガンドの遺伝子発現調節作用

DITPAおよびT3の培養心筋細胞における遺伝子発現作用を検討したところ、DITPAの作用が観察される濃度範囲はT3に較べて約100倍高い濃度であった。これはDITPAの甲状腺ホルモン受容体に対する親和性がT3と較べて約100倍低いことと合致する。2つの甲状腺ホルモン受容体アゴニストともに心筋収縮性決定において特に重要なミオシン重鎖 $\alpha$ 型サブタイプ( $\alpha$ MHC)や筋小胞体Ca<sup>2+</sup>-ATPase 2型アイソフォーム(SERCA2)の遺伝子の発現に対するDITPAの最大作用はT3と同等であった。心筋収縮調節および心拍数調節

の双方に重要と考えられる $\beta_1$ アドレナリン受容体( $\beta_1$ AR)遺伝子の発現は DITPA および T3 の投与により上昇したが、その最大作用も 2 つの甲状腺ホルモン受容体アゴニスト間で同等であった。ペースメーカーチャンネル (HCN) のうち、HCN1 および HCN4 の遺伝子発現に対する DITPA の最大作用は T3 と同程度であった。一方、 $\alpha$ MHC、SERCA2、 $\beta_1$ AR 遺伝子の発現において同程度の効果を発揮する用量において、HCN2 の遺伝子発現に対する DITPA の作用は T3 と比べて有意に低かった。T3 は HCN2/SERCA2 の mRNA 量比を増加させたことから T3 の遺伝子発現増加作用は SERCA2 遺伝子よりも HCN2 遺伝子に選択的であるが明らかとなった。これに対し、DITPA 処理では HCN2/SERCA2 の用量依存的な増加傾向が見られたが、統計的に有意ではなかった。HCN チャンネルは心拍数の重要な決定因子であるが、他の様々なイオン輸送体 (イオンチャンネル、イオントランスポーター) および cAMP 等の細胞内情報伝達物質も心筋細胞の興奮性を調節している。そこで、SERCA2 および  $\alpha$ MHC の遺伝子発現に対して同等の作用を示す濃度の T3 (1 nN) と DITPA (100 nM) の心筋細胞の遺伝子発現に対する効果をマイクロアレイにより解析した。その結果、GeneChip U34A 上に存在する 8,740 種類のシーケンスタグのうち、コントロール群と比較して T3 処置により発現に有意な変化が認められたものは 396 個、DITPA 処置により変化が認められたものは 632 個であった。T3 処置の効果と DITPA 処置の効果が有意に異なる遺伝子は 391 個認められた。二種のアゴニスト処置間で差の認められた遺伝子のうち、HCN2 以外に明らかにイオンチャンネルもしくはイオントランスポーターをコードするものとして (鉤括弧内は T3 の効果の DITPA の効果に対する比率)、transient receptor potential channel C4 (TRPC4) [4.8]、機能未知の電位依存性  $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$  チャンネル [0.6]、タイプ II  $\text{Na}^{+}$  チャンネル [0.8]、コネキシン 37 [0.4]、 $\text{K}^{+}$  チャンネル Kv3.2 [0.4]、 $\text{K}^{+}$  チャンネル Kv3.3 [1.4]、T-タイプ電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネル  $\alpha$  サブユニット [2.3]、タイプ 2  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$  エクスチェンジャー (NCX2) [0.6]、タイプ 1  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$  エクスチェンジャー (NCX1) [1.2]、 $\text{K}^{+}$  チャンネル rERG [1.2] が認められた。また cAMP 依存性プロテインキナーゼタイプ II 制御サブユニット遺伝子 (RII) の発現は T3 処置では変化が見られなかったが、DITPA の処置で有意に低下した。

#### (B) 甲状腺ホルモンの急性効果の検討

胎児ラット心室筋由来の H9C2 細胞にチロキシン (T4) を投与することでリン酸化された p42/p44 MAP キナーゼ (ERK1/2) の増加が認められた。すなわち、 $1 \times 10^{-12}$  M 以上の T4 の刺激により、30 分以内にリン酸化 ERK の量が濃度に依存して増加した。これに対して H9C2 細胞の JNK や p38 MAP キナーゼは T4 の急性投与によってリン酸化を受けなかった。作用濃度に基づく ERK1/2 リン酸化作用の強さは  $T4 \gg T3 = rT3$  (reverse T3) であった。以前に報告された HeLa 細胞や CV-1 細胞の場合とは対照的に、H9C2 細胞では百日咳毒素や Calphostin C の前処理によっても T4 誘発性 ERK1/2 リン酸化は抑制されなかったが、PD98059, Genistein, Wortmannin によって T4 の ERK1/2 のリン酸化作用は完全に阻害された。このことは、T4 はチロキナーゼと PI3 キナーゼの活性化を通して MEK を刺激し、ERK1/2 のリン酸化を引き起こすことを示唆している。事実、T4 の急性投与によって PI3 キナーゼカスケードの下流に位置する基質である Akt もリン酸化されることが明らかとなった。

#### (C) 肥大型心筋症モデルマウスの表現型に対する加齢の影響

Jones *et al.* (1998) のモデルとは対照的に本研究者のカルセクエストリン過剰発現マウスは最低 17 ヶ月齢まで外見上の異常は認められず、17 ヶ月までの生存率も 100% であった。また、心筋のカルセクエストリンタンパク質レベルは 17 ヶ月齢でも若齢期と同様、野生型と比べて 20 倍の過剰発現が維持されていた。重篤な病態心筋においては SERCA、ホスホランパンのタンパク質レベルが変化することがあるが、17 ヶ月齢のカルセクエストリン過剰発現マウスと野生型マウスにおける心筋 SERCA およびホスホランパン量には差が認められなかった。若齢 (2~3 ヶ月齢) カルセクエストリン過剰発現マウスにおいては心肥大が報告されている。17 ヶ月齢のカルセクエストリン過剰発現マウスにおいては左心房がほぼ全域にわたり石灰化・線維化していたものの、左右心室筋湿重量/体重比は若齢群と比べて有意な変化が見られなかった。また肺湿重量/体重比 (肺鬱血・心不全の指標) も加齢による変化および遺伝型の差による違いは認められなかった。また、若齢カルセクエストリン過剰発現マウスにおいては興奮収縮連関の心筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$  制御系異常と、それに伴う低心筋収縮能が知られている。2~3 ヶ月齢および 17 ヶ月齢のカルセクエストリン過剰発現マウス心筋の収縮能・弛緩能を単離心筋灌流標本により検討したところ、若齢カルセクエストリン過剰発現マウスで観察された低収縮能および低弛緩能は加齢によってさらに悪化することないことが明らかとなった。

#### 4. 考察

##### (A) 初代培養心筋細胞における甲状腺ホルモン受容体リガンドの遺伝子発現調節作用

培養心筋細胞において $\alpha$ MHC、SERCA2、 $\beta_1$ AR、HCN1、HCN4 遺伝子の発現変化作用に関してDITPAはT3と同等の内活性をもつと考えられるが、これらの遺伝子発現において同等の薬効を示す濃度においてDITPAはT3と較べてHCN2 遺伝子上昇作用についてはパーシャルアゴニスト（部分活性薬）であることが明らかとなり、T3とDITPAは特定の遺伝子に対して内活性が異なることが示唆された。HCN2チャンネルは心室筋に発現が多く伝導系細胞における発現が少ないこと、およびcAMP非存在下の $V_{1/2}$ 値が約 $-80$  mVと深いことから、通常の状態では心拍数調節に直接関与しているとは考えにくい。しかし甲状腺ホルモン存在下では $\beta_1$ AR発現量増加に伴う細胞内cAMP濃度の上昇によりHCN2の $V_{1/2}$ 値上昇が起こると考えられるため、HCN2は甲状腺ホルモン刺激下では心拍数増加作用および不整脈誘発作用に関わっている可能性がある。この点でHCN2遺伝子発現におけるパーシャルアゴニズムはDITPAの心拍数への作用の弱さに関与している可能性がある。

また、マイクロアレイを用いた検討から、HCN以外にもT3とDITPA間では心筋細胞の興奮性に関与する複数のイオンチャンネルの遺伝子発現において差が認められた。このうち、電位依存性 $Ca^{2+}/Na^+$ チャンネル、タイプII $Na^+$ チャンネル、コネキシン37、 $K^+$ チャンネルKv3.2、 $K^+$ チャンネルKv3.3およびタイプ2 $Na^+/Ca^{2+}$ エクスチェンジャー(NCX2)は通常心筋に発現していることはないと言われるため、これらの遺伝子発現におけるT3とDITPAの薬効の差の心拍数に及ぼす影響は不明である。TRPC4遺伝子発現に対してはT3では作用が認められなかったがDITPAでは約1/5に発現が減少した。TRPC4の心筋における機能はまだほとんど明らかではないが、細胞質中の $Ca^{2+}$ 濃度が低下すると開口するカチオンチャンネルであること、また消化管においてはペースメーカーとして機能することが知られている。T型電位依存性 $Ca^{2+}$ チャンネルはペースメーカー電位の発生に関わるとされている。T3はT型 $Ca^{2+}$ チャンネル発現を増加させたのに対し、逆にDITPAでは40%発現が減少したことから、T型 $Ca^{2+}$ チャンネル遺伝子発現への作用の違いによりDITPAが心収縮選択性を示す可能性が考えられた。洞房結節細胞においてNCXを遮断すると心拍数が低下することが知られていることから、心筋に発現するNCXアイソフォームであるNCX1に対してDITPAの作用が弱いこともDITPAの心収縮選択性に関与する可能性がある。 $K^+$ チャンネルrERGは遅延整流性 $K^+$ 電流 $I_{Kr}$ をもたらすチャンネルとして知られ、活動電位における再分極およびペースメーカー電位の発生に関与している。DITPAはrERGの発現促進作用がT3よりも低かったことから、rERG遺伝子に対する薬効の差もDITPAの心収縮選択性に関与する可能性がある。 $I_{Kr}$ 遮断薬はタイプIII抗不整脈薬として知られており、rERG遺伝子の発現促進作用が弱いDITPAは*in vivo*で投与した場合にT3よりも不整脈誘発作用が少ない可能性がある。RT-PCRでの検討から、 $\beta_1$ AR遺伝子発現に対するT3とDITPAの効果は同等と考えられたが、 $\beta_1$ AR情報伝達系の下流に位置するcAMP依存性プロテインキナーゼタイプII制御サブユニット(RII)の発現量がDITPA処置群においてのみ減少した。RIIはcAMP依存性プロテインキナーゼ触媒サブユニットの内因性阻害剤として働く。従ってDITPA処置群においては $\beta_1$ ARを介する情報伝達系のstoichiometryもしくはefficacyが変化していることが示唆された。

##### (B) 甲状腺ホルモンの急性効果の検討

胎児ラット心室筋由来H9C2細胞においてT4はチロシンキナーゼ、PI3キナーゼおよびMEKを介してERKリン酸化作用を惹起することが示唆された。T4が急性効果を引き起こす際のT4の受容体はまだ同定されていない。一般的に核内受容体を介した作用の強さがT3>T4>rT3であることが知られているにもかかわらず、本実験の結果から急性作用発現の強さはT4>T3=rT3であることから、急性作用は核内受容体を介さずに他の結合部位を介する可能性が考えられる。ERK1/2の活性化は虚血・再灌流障害から心筋細胞を保護することが知られている。また、Aktも虚血再灌流時には心筋を保護する役割を持っている。これらのことを考慮すると、T4による急性効果はストレス下の心筋細胞傷害を抑制する可能性があると考えられる。

##### (C) 肥大型心筋症モデルマウスの表現型に対する加齢の影響

カルセクエストリン過剰発現(20倍)による心筋小胞体の $Ca^{2+}$ 制御障害は心肥大の形成と持続に関わっていると考えられる。17カ月齢のマウスの心筋表現型を検討した結果、本研究者の作成したカルセクエストリン過剰発現マウスにおける心筋表現型は非常に安定で、加齢による病態の悪化は認められなかったことから、予後が良好なヒト肥大型心筋症に類似した表現型と考えられる。Jones *et al.* (1998)のマウスモデルでは本研究者よりも低いレベルの過剰発現(10倍)であるにもかかわらず若齢での心不全死が起こるが、これはカルセクエストリン過剰発現そのものよりも、マウス系統など、アーチファクトの相乗効果によるものである可能性が高い。

## 5. まとめ

これまでの研究によって、ペースメーカーチャネル (HCN) 遺伝子発現上昇作用における内活性の弱さが DITPA の持つ収縮力選択性の原因の一つであることが示唆された。また、同等の SERCA2 遺伝子増加作用を示す濃度を用いた場合、HCN 遺伝子以外にも複数の心拍数関連遺伝子の発現において DITPA は心拍数増加に結びつく効果が T3 よりも弱いことが明らかとなった。心拍数は個々の分子機能のインテグレーションとして発現する機能である。したがって心拍数における薬効の差に対して各遺伝子調節作用がどの程度寄与しているかを解明すること、および個々の遺伝子において薬効の差をもたらす分子機構を解明することが今後の課題である。このため、今回明らかとなった遺伝子のプロモーター部位含むレポーター遺伝子を作成し、DITPA および T3 の遺伝子転写制御作用を検討する系を確立することを予定している。さらに、今後は心筋症および心不全のモデル動物において DITPA と T3 の遺伝子作用の差について評価することを予定している。これらによって、より効果的に心収縮選択的遺伝子調節薬剤をスクリーニングする戦略が明らかになることが期待される。なお、スクリーニングにおいては遺伝子調節作用のみならず甲状腺ホルモンの急性効果も考慮する必要性があることが示唆された。

また本研究で使用予定のカルセクエストリン過剰発現マウスにおける加齢の影響を評価したところ、同マウスは予後が良好なヒト肥大型心筋症に類似した表現型を持つと考えられた。

## 6. 研究発表

- 1) Nakamura R, Satoh M, Mori S, Inoue K, Sato Y Thyroxine-induced ERK1/2 phosphorylation through tyrosin kinase in H9C2 cells. *J Pharmacol Sci* 2003;91(Suppl. I): 123P.
- 2) Mori S, Ishida S, Shinozaki Y, Sawada J, Miyazawa H, Yamaguchi T, Inoue K, Sato Y Microarray analysis of thyroid hormone actions in rat aortic smooth muscle cells. *J Pharmacol Sci* 2003;91(Suppl. I): 156P.
- 3) Watanabe K, Ono K, Miyazawa H, Kiuchi Y, Yamaguchi T, Shimizu S, Sato Y Myosin isoform expression in murine embryonal carcinoma cells after cardiac differentiation. *J Pharmacol Sci* 2003;91(Suppl. I): 99P.
- 4) Sato Y, Schmidt AG, Kiriazis H, Hoit BD, Kranias EG Compensated hypertrophy of cardiac ventricles in aged transgenic FVB/N mice overexpressing calsequestrin *Mol Cell Biochem* 2003 242(1): 19-25.
- 5) Minamisawa S, Sato Y, Tatsuguchi Y, Fujino T, Imamura S, Uetsuka Y, Matsuoka R Mutation of the phospholamban promoter associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2003 (in press)
- 6) Nakamura R, Mori S, Satoh M, Inoue K, Sato Y Activation of ERK1/2 by thyroxine *via* PI3 kinase in H9C2 cells. *J Mol Cell Cardiol* 2002;34: A25.
- 7) Carr AN, Schmidt AG, Suzuki Y, Del Monte F, Sato Y, Lanner C, Breeden K, Jing SL, Allen PB, Greengard P, Yatani A, Hoit BD, Grupp IL, Hajjar RJ, DePaoli-Roach AA, Kranias EG. Type 1 Phosphatase, a Negative Regulator of Cardiac Function. *Mol Cell Biol* 2002;22(12):4124-4135.
- 8) Sato Y, Mori S, Fujino T, Nishimaki-Mogami T, Inoue K Selective gene expression by a thyroid hormone receptor agonist in cardiomyocytes. *Jpn J Pharmacol* 2002;88 (Suppl. I):262P.
- 9) Kiriazis H, Sato Y, Kadambi VJ, Schmidt AG, Gerst MJ, Hoit BD, Kranias EG Hypertrophy and functional alterations in hyperdynamic phospholamban-knockout mouse hearts under chronic aortic stenosis. *Cardiovasc Res* 2002;53(2):372-81.

## 7. 知的所有権の取得状況

- |            |    |
|------------|----|
| 1) 特許取得:   | なし |
| 2) 実用新案登録: | なし |
| 3) その他:    | なし |