

接着分子系と増殖因子受容体シグナル系との相互作用を基盤とした新規心不全治療開発

扇田久和

滋賀医科大学 分子病態生化学

【研究の背景】

多細胞生物が生存していく上で、細胞間の接着は不可欠である。その接着を担う最重要分子はカドヘリンなどの接着分子であり、これらの接着分子が欠損あるいは機能不全になると、多くの場合、死亡または重篤な臓器機能障害が生じる。接着分子はそれ自身だけで十分な機能を発揮できるのではなく、接着分子の細胞内領域に結合するアダプター分子など様々な分子と結合し接着分子系を形成することが、生体内での細胞間の接着に重要である。

心臓の心筋細胞間の接着には介在板が作用しており、この部位に接着分子系が集積する。研究代表者らは、アダプター分子アファディンが種々の細胞間の接着において不可欠な分子であることを明らかにしてきた。心臓に関しては、アファディンは介在板に局在する。心筋細胞特異的にアファディンを欠損させたコンディショナルノックアウト(cKO)マウスを作製し、その機能解析を行ったところ、アファディンcKOマウスは、心臓圧負荷に対して容易に心機能が低下し、心不全となることを見出した。しかし、その分子機構は不明であった。

多くの接着分子系は、同じく細胞表面に存在する増殖因子受容体と相互作用することが報告されている。増殖因子受容体の1つであるTGF- β 受容体およびその下流シグナル系は、心臓の線維化などを制御して心機能に影響を及ぼすことが知られている。

【目 的】

心筋細胞でアファディンが欠損することにより心機能低下・心不全となる分子機序を解明することが本研究の主目的である。その際、接着分子系と増殖因子受容体系が相互作用するというこれまでの知見を応用する。本研究では、特に、アファディンとTGF- β 受容体シグナル系との相互作用に着目して解析を行う。

【方 法】

大動脈弓部を縮窄することでマウス心臓へ圧負荷をかけた。アファディンとTGF- β 受容体との相互作用については、免疫沈降法および免疫組織染色法で検討した。TGF- β 受容体下流の細胞内シグナル伝達系については、Smad、TAK1、Akt分子に着目して、ウェスタンブロット法で解析した。心筋の線維化はMasson trichrome法で、アポトーシスはTUNEL法および切断カスパーゼ-3発現量で解析した。心臓の炎症は、抗F4/80抗体によるマクロファージ浸潤量で評価した。TGF- β 受容体の阻害薬としてSB431542を使用した。

【結 果】

圧負荷8週間後にマウス心臓を摘出して検討したところ、アファディンcKOマウス心臓では、コントロールマウスと比較して、線維化が有意に増加していた。TUNEL陽性率および切断カスパーゼ-3発現量もアファディンcKOマウス心臓で有意に増加しており、アポトーシスがより多く生じていることを見出した。また、圧負荷後初期(1~2週間後)に、マクロファージ浸潤による炎症もアファディンcKOマウス心臓で顕著に見られた。

これらの所見が見られる機序として、アフアディンと TGF- β 受容体との関連を解析したところ、アフアディンは TGF- β 受容体と共発現し、心筋介在板で共局在していることを見出した。両分子間の相互作用は、圧負荷の期間が長くなるほどより強くなった。さらに、心筋サンプルを用いた実験で、Smad2 および TAK1 のリン酸化(活性化)がコントロールマウスでは認められるのに対し、アフアディン cKO マウスでは抑制されていた。アポトーシスを抑制する Akt の活性化も、アフアディン cKO マウス心筋では抑制されていた。

コントロールマウスに TGF- β 受容体阻害薬 SB431542 を投与したところ、アフアディン cKO マウスと同様に、マクロファージ浸潤による炎症、心筋線維化が増加した。

【考 察】

接着分子系として重要な役割をもつアフアディンは、増殖因子受容体 TGF- β 受容体に結合してその下流の Smad2、TAK1 活性化を誘導すると共に Akt の活性化も誘導し、心筋の炎症、線維化、アポトーシスを抑制することで、圧負荷などの外的刺激に対する心臓のダメージを阻止して心機能の維持に作用していると考えられた。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

日本や欧米では、高齢化の影響で心不全患者は急増しており、その対処および克服は日本国内だけでなく国際的にも重要な課題である。これまでに ACE 阻害薬や β -ブロッカーなどが心不全治療薬として活用されているが、患者数の増加からもそれだけでは心不全の征圧に十分とは言えない。本研究よりアフアディンが心機能低下・心不全増悪を阻止する上で重要な分子であることを明らかにできた。さらに、本研究でのデータをもとに、アフアディンと TGF- β 受容体シグナル系との相互作用を増強できる化合物などを今後見出すことができれば、心不全に対する新しい治療法開発、創薬に貢献できると考える。

【参考・引用文献】

1. Zankov DP, Shimizu A, Tanaka-Okamoto M, Miyoshi J, Ogita H. Protective effects of intercalated disk protein afadin on chronic pressure overload-induced myocardial damage. *Sci Rep.* 2017; 7: 39335.
2. Zankov DP, Sato A, Shimizu A, Ogita H. Differential effects of myocardial afadin on pressure overload-induced compensated cardiac hypertrophy. *Circ J.* 2017; 81: 1862-1870.