

心室拡張不全の治療に役立つ新規心臓線維化マーカーの探索

武田憲彦

自治医科大学 分子病態治療研究センター 循環病態・代謝学研究部

【研究の背景】

心臓は収縮・拡張を交互に繰り返すことでポンプとして働いている。収縮・拡張いずれの機能が低下しても致命的疾患である心不全を発症させることから、心不全の病態を早期に診断し治療介入することが重要である。心臓の収縮、拡張機能の評価においては心臓超音波検査、心臓カテーテル検査が有効であるが、いずれも高額かつ高度な医療技術が必要であり、また患者さんへの負担も大きくスクリーニングとして行うことは困難である。そのため、簡便に心臓収縮能、拡張能を診断できるバイオマーカーの導入が循環器臨床において極めて有用であると考えられている。これまで収縮能のマーカーとして脳性ナトリウム利尿ペプチド(Brain natriuretic peptide, BNP)が循環器臨床において広く導入され、健康診断など予防医学的なスクリーニングにおいて既に大きな役割を果たしている。その一方で拡張不全を診断するバイオマーカーはこれまで存在しなかった。

【目的】

心臓拡張不全の主たる病態の一つは心筋組織の線維化である。心臓線維芽細胞は組織線維化において中心的役割を果たす細胞であり、心筋梗塞部位などにおいて活性化することで心筋脱落部を補完し、組織構造を保持する役割を果たす。一方で心臓線維芽細胞が過剰に活性化すると拡張不全を引き起こす原因になるが、これまでその病態機構が明らかになっておらず、それ故に拡張不全の指標となるバイオマーカーが同定されてこなかった。本研究は心臓線維芽細胞の活性化プロセスを検証し、その分子機構を明らかにすることで、心臓線維化マーカーの同定へと繋げることを目的とする。

【方法】

心臓線維芽細胞の活性化マーカーであるI型コラーゲン産生を評価するために、Collagen1a1プロモーター下にGFPを発現するマウス(Col-GFPマウス)を用いる。Col-GFPマウスより初代心臓線維芽細胞を単離し、SV40を導入することで心臓線維芽細胞の不死化株を樹立する。樹立した細胞におけるGFPシグナルを計測し、コラーゲン産生によりGFPシグナルが増強される細胞株を選択・クローン化する。引き続きプール型shRNA libraryを導入することで、I型コラーゲン発現に関わる細胞内シグナル経路を探索・同定する。

上記アプローチを通じて、心臓線維芽細胞の活性化に関わる分子プロセスを明らかにすることで、心臓線維化、心臓拡張不全の病態を反映するバイオマーカーの同定へと繋げる。

【結果】

本研究においてCol-GFPマウスより心臓線維芽細胞を単離し、retrovirusを用いてSV40を導入することで心臓線維芽細胞の不死化を行った。引き続き不死化した細胞にコラーゲン発現誘導刺激であるTGF β を投与し、GFPシグナルを測定した。一部の細胞はTGF β 刺激によりGFPシグナルが増強されることが確認されたことから、この細胞集団を単離・クローン化し、コラーゲン産生をGFPシグナル強度として検出できる細胞株の樹立に成功した。

次にプール型 shRNA library を導入した後に GFP シグナルの計測を行った。その結果、一部の細胞集団では shRNA 導入後に GFP シグナルが有意に減弱していることが判った。そこでこの細胞集団を sorting し、導入されている shRNA を解析することで、コラーゲン産生に関わる細胞内経路の探索に着手した。これまでの解析から、既にコラーゲン産生に関わるとされている TGF β シグナルに加えて、Wnt シグナルを含むいくつかの細胞内シグナルを同定することが出来た。引き続き詳細な解析を継続することで、心臓線維芽細胞の活性化様式を明らかにすると共に、心臓線維化を反映する新たなバイオマーカーの同定へと繋げることができると考えている。

【考 察】

本研究により心臓線維芽細胞活性化機構の解析に資する細胞株を樹立・単離することが出来た。引き続き上記細胞株を用いた解析を行うことで、心筋組織の過剰な線維化を引き起こす細胞内シグナルを同定することができると期待される。

上記解析と併行して、我々は心臓線維芽細胞の活性化を抑制するシグナルの探索にも着手している。これまでの解析から (*Nature Commun* 2019)、心筋組織に浸潤するマクロファージが線維芽細胞の活性化を負に制御することを見出している。心臓線維芽細胞の活性化に関わる細胞内経路と、その活性化を抑制する細胞外シグナルを同定することで、心臓線維化、拡張不全に対する新たな治療法開発へと展開できると考えている。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

心臓拡張不全は治療抵抗性の疾患であることから、軽症例を早期に発見することで生活指導や薬物治療などにより病気の進行を予防するアプローチを行うことが重要である。現在多くの拡張不全の軽症例は見過ごされており、病状が重症化して心不全を発症してから初めて診断される状況が続いている。本研究により拡張不全を診断する血清バイオマーカーを同定することが出来れば、健康診断・人間ドックなどで予防的に拡張不全を診断することが可能になる。これまで見過ごされ治療の機会を失っていた拡張不全症例を早期に診断し、軽症の段階での治療介入により生命予後を改善させることが可能になる。

【参考・引用文献】

Abe H, Takeda N, Isagawa T, Semba H, Nishimura S, Morioka MS, Nakagama Y, Sato T, Soma K, Koyama K, Wake M, Katoh M, Asagiri M, Neugent ML, Kim JW, Stockmann C, Yonezawa T, Inuzuka R, Hirota Y, Maemura K, Yamashita T, Otsu K, Manabe I, Nagai R and Komuro I. Macrophage hypoxia signaling regulates cardiac fibrosis via Oncostatin M. *Nature Communications*. 10(1):2824, 2019.