

拡張不全型心不全の線維化機構解明と革新的治療法の開発

貞廣威太郎

慶應義塾大学医学部 循環器内科

【研究の背景】

心不全診療において拡張不全型心不全には、有効な薬剤が少なく新規治療法の確立が期待される。心筋直接リプログラミングは虚血性心疾患の心臓線維芽細胞から心筋細胞を誘導し、心機能と線維化を回復させることが可能な再生医療であるが、線維化機構が不明な拡張不全型心不全においても心筋直接リプログラミングが心筋を再生し、心機能を回復させることが可能かどうかは明らかではない。

【目 的】

本研究では、拡張不全型心不全における心臓線維化機構を解明すると共に、心筋直接リプログラミングによる革新的心不全治療法の開発を目的とする

【方 法】

1. 生活習慣病に伴う拡張不全型心不全モデルの確立

NOS 阻害薬、高脂肪食負荷を 15 週間継続することで、生活習慣病(高血圧、耐糖能異常、肥満)に伴う拡張不全型心不全モデルを作成する。

2. シングルセル解析・空間的遺伝子発現解析による拡張不全型心不全における線維化機構の解明

心臓内には多様な細胞が存在し、心不全の病態に関与する。そこで、拡張不全型心不全マウス心臓でシングルセル解析・空間的遺伝子発現解析を行い、単一細胞レベルでの遺伝子発現変化、細胞間相互作用を解析し、病態の根幹に存在する病的な線維芽細胞を特定する。

3. 病的線維芽細胞の標識が可能なトランスジェニックマウス開発

生体内心臓線維芽細胞を染色できる抗体は少なく、免疫組織化学での評価は困難である。そこで、特定した病的線維芽細胞マーカーの Cre ドライバーマウスを開発する。このマウスとレポーターマウスを交配し、病的線維芽細胞の系統追跡と収集を行う。

4. 拡張不全型心不全の病的線維芽細胞を標的とした心筋直接リプログラミング法の開発

病的線維芽細胞を標的として、心筋直接リプログラミングによる心臓再生・抗線維化作用を評価する。病的線維芽細胞集団にリプログラミング因子を強制発現させることが可能な遺伝子改変マウスを作製する。

【結 果】

拡張不全モデルマウスの心臓組織の遺伝子発現解析の結果、線維化や炎症などの心不全の発症、進行に関連する遺伝子の発現が上昇することを見出した。さらに、心臓線維芽細胞の遺伝子発現を 1 細胞レベルで明らかにする、シングルセル解析を行った結果、拡張不全の心臓線維芽細胞は 6 種類の異なる細胞集団から構成されており、心不全では、これらの細胞集団ごとに、心臓線維化や心不全の悪化に関連する細胞外基質や TGF β シグナル関連遺伝子の発現が誘導されて

いることが判明した。また、空間的遺伝子発現解析を行い、これらの線維芽細胞集団の中で、拡張心不全の特徴である血管周囲・間質の心臓線維化に関連する細胞集団と、心不全における状態変化を明らかにした。

心臓内の心臓線維芽細胞の心筋リプログラミングを行うために、タモキシフェン投与により遺伝子発現を制御できる遺伝子改変マウスを作製した。具体的には 4 つの心筋特異的遺伝子 (MGTH) を時期・部位特異的に発現制御できる CAG-CAT-MGTH2A Tg マウスを作製した。このマウスをタモキシフェン誘導性の線維芽細胞特異的 Cre マウス (Tcf21-iCre Tg) と R26tdTomato レポーターマウスと交配し、トリプルトランスジェニック (TTg) マウスを作製した。この TTg マウスを用いた拡張不全モデルによる生体内リプログラミングの結果、心不全の線維芽細胞からの生体内リプログラミングに成功し、線維化縮小、心機能改善に成功した。

さらに、線維芽細胞が正常化する機序として、リプログラミング因子の一つである Gata4 遺伝子が重要であることを明らかにした。具体的には、Gata4 遺伝子単独の効果によって拡張不全における線維芽細胞の活性化遺伝子 Meox1 発現を抑制することで、拡張不全の心臓線維化と心臓機能を改善可能であることを明らかにした。これらの結果から、心筋ダイレクトリプログラミングは、心臓線維芽細胞からの心筋再生と、線維芽細胞の正常化による抗線維化作用の両面で、Gata4 遺伝子の遺伝子導入による抗線維化作用によって拡張不全の病態を改善させることが分かり、その成果を *Circulation* 誌に発表した¹⁾。

【考 察】

本研究によって、心筋リプログラミングが、心筋梗塞・収縮不全だけでなく、拡張不全に対する心臓再生治療として応用可能であることが示された。一方で、リプログラミング遺伝子が心臓線維芽細胞を健常化させる直接作用や、健常化した線維芽細胞が果たす役割、さらには効果的な心筋再生が可能な遺伝子導入法の開発などが、今後、解決すべき課題として考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

心不全診療において、拡張不全の予後改善に有効な薬剤は少ない。さらにこれらの薬剤が心臓線維化を修復する作用は少ないと考えられ、抗線維化治療の確立は大きなアンメットニーズである。本研究成果によって、病態に関与する病的線維芽細胞を心筋に再生し、線維化機構を抑制することが可能になれば、現代医療で熱望される拡張不全型心不全に有効な治療法を開発することが可能となり、広く循環器診療に貢献できる研究へと発展する。

【参考・引用文献】

- 1) Yu Yamada#, Taketaro Sadahiro#, Koji Nakano, Seiichiro Honda, Yuto Abe, Tatsuya Akiyama, , Ryo Fujita, Masashi Nakamura, Takashi Maeda, Yuta Kuze, Masaya Onishi, Masahide Seki, Yutaka Suzuki, Chikara Takeuchi, Yuka W. Iwasaki, Kensaku Murano, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Shigeru Chiba, Hideyuki Kato, Hiroaki Sakamoto, Yuji Hiramatsu, Masaki Ieda: Cardiac reprogramming and Gata4 overexpression reduce fibrosis and improve diastolic dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation* (In press). #Equal contributors.