OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 心筋組織再生治療法開発のための心筋組織幹細胞分化制御シグナルに関する研究 |
| Author(s) | 毛利, 友美 |
| Citation | 大阪大学, 2009, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/49667 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【1】

| | |
|---|---|
| 氏名 | 毛利友美（もうりともみ） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士（臨床薬学） |
| 学位記番号 | 第　２２８９１　号 |
| 学位授与年月日 | 平成21年３月24日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第４条第１項該当<br>薬学研究科応用医療薬科学専攻 |
| 学位論文名 | **心筋組織再生治療法開発のための心筋組織幹細胞分化制御シグナルに関する研究** |
| 論文審査委員 | （主査）<br>教授　東　純一<br>（副査）<br>教授　馬場　明道　　教授　土井　健史　　教授　八木　清仁 |

## 論文内容の要旨

心血管病患者数は世界的に増加の一途を辿っており、様々な心血管病の終末像である心不全は主要な死因のひとつである。現在、心不全治療に用いられている薬剤は一定の効果が認められているものの、さらなる生命予後の改善が求められており、新たな心不全治療法の開発が急務である。心筋組織の恒常性の維持は、心筋組織の保護機構と修復・再生に依存していると考えられていることから、心筋組織の保護・修復・再生機構を明らかにすることが有効な心不全治療法の開発に繋がると期待される。IL-6 ファミリーサイトカイン/gp130/STAT3 シグナルは、心筋保護における重要性が示されているが、そのメカニズムのひとつとして、心筋と血管の相互作用を介した心筋組織保護機構が提唱されている。また、近年、心筋組織内に存在する幹細胞として Sca-1 陽性細胞や c-kit 陽性細胞が同定され、これらの細胞が心筋細胞や血管内皮細胞、平滑筋細胞等の心筋構成細胞への分化能を有することが示されている。さらに、これらの心筋組織幹細胞を心筋梗塞発症マウスに移植したところ、心筋再生と血管新生が認められ、心機能が改善したとの報告がなされている。これらの報告を受け、新たな心不全治療法として、組織幹細胞の心筋組織再生能を応用した細胞移植療法が注目されているが、心筋組織幹細胞に分化誘導を促す生理的シグナル伝達機構は不明である。

本研究では、サイトカインシグナルによる組織幹細胞を標的とした心不全治療法の確立を目指し、心筋組織の恒常性維持に重要とされる IL-6 ファミリーサイトカインの心筋組織幹細胞に対する作用に関して検討を行った。

本研究では、心筋組織幹細胞としてマウス心臓由来 Sca-1 陽性細胞を用いた。まず、IL-6 ファミリーサイトカインが心臓由来 Sca-1 陽性細胞において gp130 シグナルを伝達するかどうかを検討した。その結果、IL-6 ファミリーサイトカインである LIF が gp130、STAT3、ERK1/2 の活性化を惹起したことから、IL-6 ファミリーサイトカインが心臓由来 Sca-1 陽性細胞において gp130 シグナルを伝達することが明らかとなった。次に、心臓由来 Sca-1 陽性細胞が心筋細胞や血管内皮細胞、平滑筋細胞等の心筋構成細胞に分化することが報告されていることから、心臓由来 Sca-1 陽性細胞の分化に対する LIF の作用に関して検討を行った。LIF 存在下で心臓由来 Sca-1 陽性細胞を培養することにより、内皮細胞への分化が誘導されたが、心筋細胞および平滑筋細胞への分化は認められなかった。また、障害心筋においては、TNF-α や IL-1β をはじめとする様々なサイトカインの発現が増強していることから、これらのサイトカインが心筋組織幹細胞の分化を制御している可能性を考え、TNF-α、IL-1β、IL-6、ならびに IL-6 ファミリーサイトカインである IL-11 と CT-1 の心臓由来 Sca-1 陽性細胞に対する作用に関して検討を行った。その結果、IL-11 および CT-1 が心臓由来 Sca-1 陽性細胞の内皮細胞への分化を誘導したが、TNF-α、IL-1β は分化誘導作用を示さなかった。また、内皮細胞への分化誘導作用を示した IL-11 および CT-1 は、心臓由来 Sca-1 陽性細胞において STAT3 の活性化を惹起したのに対し、TNF-α および IL-1β 刺激では STAT3 活性化は認められなかった。そこで、IL-6 ファミリーサイトカインによる心臓由来 Sca-1 陽性細胞の内皮細胞への分化誘導における STAT3 の重要性を検討するため、STAT3 の機能抑制実験を行った。その結果、IL-6 ファミリーサイトカインによる心臓由来 Sca-1 陽性細胞の内皮細胞への分化誘導に STAT3 の活性化が必要であることが示された。さらに、IL-6 サイトカインによる心筋組織幹細胞の内皮細胞分化誘導作用の病態生理学的意義を検証するため、虚血性心疾患モデル動物として心筋梗塞誘発マウスを用い、梗塞後心筋における IL-6 ファミリーサイトカインと組織幹細胞の細胞動態に関して検討を行った。その結果、心筋梗塞誘発により心筋組織における IL-6 ファミリーサイトカインの発現が上昇するとともに、内皮細胞マーカーを発現している Sca-1 陽性細胞数が増加することが示された。以上の結果より、梗塞心筋において活性化された IL-6 ファミリーサイトカインシグナルが、組織幹細胞の内皮細胞への分化を誘導することにより、梗塞後心筋における血管形成に寄与する可能性を示唆された。

次に、IL-6 ファミリーサイトカインによる心臓由来 Sca-1 陽性細胞の内皮細胞への分化制御シグナルを明らかにすることを目的として、心臓由来 Sca-1 陽性細胞において IL-6 ファミリーサイトカインにより発現制御を受ける分子の同定を試みた。その結果、心臓由来 Sca-1 陽性細胞における IL-6 ファミリーサイトカイン/STAT3 シグナルの標的遺伝子のひとつとして Pim-1 を同定した。さらに、IL-6 ファミリーサイトカインによる内皮細胞分化誘導への Pim-1 の関与に関して検討した結果、IL-6 ファミリーサイトカインによる心臓由来 Sca-1 陽性細胞の内皮細胞分化に Pim-1 が必要であることが明らかとなった。

本研究結果は、IL-6 ファミリーサイトカインシグナルが、心筋細胞での VEGF 発現誘導を介した血管新生作用に加えて、心筋組織幹細胞の内皮細胞への分化誘導を介した血管発生作用によって、心筋組織の修復・再生過程における血管形成に寄与している可能性を示唆するものである。

近年、IL-6 ファミリーサイトカインが心筋細胞保護作用を示し、心不全治療の標的分子となる可能性が示唆されていることからも、IL-6 ファミリーサイトカインならびに組織幹細胞を標的とした心不全治療法の開発が期待される。今後、傷害心筋における組織幹細胞の動員による血管形成の重要性の検証、および、IL-6 ファミリーサイトカインによる心筋組織幹細胞の内皮細胞への分化制御メカニズムの解明がなされることにより、本研究で得られた知見が、心不全治療法の開発に繋がることを期待する。

## 論文審査の結果の要旨

本論文では、サイトカインシグナルによる組織幹細胞を標的とした心不全治療法の確立を目指し、心筋組織の恒常性維持に重要とされるIL-6ファミリーサイトカインの心筋組織幹細胞に対する作用に関する検討がなされた。その結果、IL-6ファミリーサイトカインが心筋組織幹細胞を内皮細胞へと分化誘導することを見出し、その分化誘導機構にSTAT3活性が必須であることを明らかにした。また、心筋虚血モデル動物を用いた検討より、傷害心筋において活性化されたIL-6ファミリーサイトカインシグナルが、心筋組織内に存在する幹細胞の内皮細胞への分化を誘導することにより、傷害心筋における血管形成に寄与する可能性を示した。さらに、心筋組織幹細胞においてPim-1がSTAT3による発現制御を受けることを示すとともに、IL-6ファミリーサイトカインによる心筋組織幹細胞の内皮細胞分化にPim-1が必要であること示し、分化誘導メカニズムの一端を解明した。

以上の結果より、IL-6ファミリーサイトカインシグナルが、心筋細胞におけるVEGF発現誘導を介した血管新生作用に加えて、組織幹細胞の内皮細胞への分化誘導を介した血管発生作用によって、心筋組織の修復・再生過程における血管形成に寄与している可能性を提示した。本成果は、サイトカインシグナルならびに組織幹細胞を標的とした心不全治療法開発に繋がる重要な知見と評価できることから、博士の学位を授与するに相応しいと考える。