The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	心筋炎終息過程では哺乳類成体の心筋細胞の内因性再生機構が活性化される
Author(s)	宮脇, 昭光
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61685
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　宮脇昭光　　）	
論文題名	心筋炎終息過程では哺乳類成体の心筋細胞の内因性再生機構が活性化される

論文内容の要旨

【背景】

心筋細胞はゼブラフィッシュや哺乳類新生児期では増殖能力を持ち、心筋傷害時には活発に増殖して組織再生を起こす。しかし哺乳類ではその増殖能力は生後間もなく殆ど失われるとされる。従って、心筋梗塞等の虚血性のストレスによって傷害を受けた心筋組織は再生されず、傷害領域は線維組織によって補われる。これが結果として心収縮能力の低下を引き起こし、心不全へとつながる。

心筋組織を再生しようという試みは多く為されているが、未だ解決には至っていない。本研究では、新規心筋組織再生療法への手掛かりとして、心筋炎病態にみられる自発的な心筋組織修復に着目した。ヒト急性心筋炎はウイルス感染や自己免疫反応によって発症し、一時的には心筋組織傷害と心機能低下を引き起こす。しかし、急性炎症終息後は多くの例で心機能の回復を迎える。この回復メカニズムは未だ不明であり、その解明は心臓の持つ内因性の再生能力を明らかにすることにつながる。

本研究では、げっ歯類における急性心筋炎モデルである実験的自己免疫性心筋炎（experimental autoimmune myocarditis: EAM）を用い、心筋炎後組織修復過程に関して心筋細胞の構造的回復、量的回復の二つの観点から解析を行った。

【方法・結果】

・心筋炎終息過程における心筋組織の構造的回復に関する解析

8週齢の雄性BALB/cマウスにEAMを誘導し、病態を経時的に評価したところ、EAM誘後3週目（EAM3w）では、心筋組織は炎症性細胞の浸潤により大きな傷害を受け、それに伴って心筋細胞の形態が変化していた。しかし、EAM5wやEAM7wでは傷害領域の縮小がみられ、心筋細胞の形態は健常時（EAM0w）近くまで戻っていた。また、心収縮力もEAM3wでは低下していたが、EAM7wまでに回復していた。

EAM0wとEAM3wの心筋細胞のタンパク質発現をショットガンプロテオミクスにより網羅的に解析し、形態変化の責任因子を探索した。801個の同定タンパク質中、52個のタンパク質はEAM3wで発現上昇しており、その中には細胞骨格タンパク質が多く存在した。また、細胞骨格タンパク質の中で、細胞膜とF-actinを架橋するERMファミリーに属す分子であるMoesinが最も顕著に発現上昇していた。Moesinの発現はEAM0wでは殆ど確認できず、EAM3wでは心筋細胞の仮足部分に局在していた。

EAM3wにおけるMoesin発現上昇の病態学的意義を調べるため、in vitroの検討を行ったところ、Moesinを過剰発現させた心筋細胞では、仮足形成が増加していた。また、Moesinを発現させた際には心筋細胞同士が仮足を介して接着している様子がみられ、Moesinによる仮足形成が心筋細胞間接着を促進する可能性が示唆された。

・心筋炎終息過程における心筋細胞の量的回復に関する解析

EAM3wからEAM5w、EAM7wにかけての組織修復に心筋細胞の増殖が寄与するかを調べるため、心筋細胞の細胞周期マーカーの発現を検討した。EAM0wでは細胞周期マーカー陽性の心筋細胞は殆ど存在しなかったが、EAM3wの炎症領域では陽性心筋細胞は著明に増加していた。また、fate mapping解析の結果、EAM3wにおける増殖心筋細胞は、前駆細胞や幹細胞など非心筋細胞由来ではなく、pre-existingな心筋細胞に由来することが示された。

ゼブラフィッシュや新生仔マウスの研究により、STAT3、Akt、ERKといったシグナル経路が心筋細胞保護因子として、また心筋細胞増殖因子としても報告されてきたことから、これらの因子に着目してEAMにおける活性評価を行った。EAM3wにおいて、Akt、ERKの活性化はみられなかったが、STAT3は心筋細胞内で強く活性化していた。 また、STAT3活性化因子であるIL-6ファミリーサイトカインのmRNA発現がEAM3wで増加していた。

EAMにおける心筋細胞内STAT3活性化の意義を検討するため、心筋特異的STAT3コンディショナルノックアウト（STAT3cKO）マウスを作製し、EAMを誘導した。EAM5wにおいて、STAT3cKOマウスではコントロールマウスと比較して顕著な心肥大が認められた。また、心収縮力は、コントロールマウスでは一旦低下した後EAM5wにおいて回復したが、STAT3cKOマウスではEAM0wに比してEAM5wで低下していた。また、STAT3cKOマウスの心臓ではEAM5wでも広範な傷害領域が残存していた。

心筋細胞内STAT3の欠損はEAMの炎症終息には影響を与えていなかったが、心筋細胞死を増加し、心筋細胞増殖を低下させており、これらがSTAT3cKOマウスの炎症後の回復不全の原因であると考えられた。

【考察・結論】

心臓は再生能力が極めて低いと考えられてきたが、臨床における急性心筋炎の多くは自発的な心機能の回復を迎える。本研究では、マウス急性心筋炎モデル、EAMを使用して心筋炎終息期の心筋細胞動態の解析を行い、炎症から組織修復への転換期に、Moesinなどの細胞骨格タンパク質の発現が上昇し心筋細胞形態が大きく変化すること、そしてSTAT3を介した心筋細胞増殖が惹起されることを見出した。

心筋細胞の仮足形成は、成体マウスの心筋再生モデルであるHippo経路不全マウスや新生仔マウスにおいて、心筋再生過程に必須である。EAMにおける心筋細胞の仮足形成も、その後の組織修復に向けた再生反応の一部である可能性がある。実際、Moesinによって誘導された仮足は心筋細胞間接着の形成を促進していた。心臓の拍動には多数の心筋細胞の協調的収縮が不可欠であるため、Moesinによる心筋細胞間接着の回復は、炎症によって傷害を受け、配列の乱れた心筋細胞の共役を再構成し、心収縮能を回復する上で重要な意義を持つことが予想される。

ゼブラフィッシュや新生仔マウスでは、STAT3が心筋細胞増殖を促進すると既に知られていたが、再生しないと考えられてきた哺乳類成体の心臓に関しては、STAT3と心筋再生の関連は不明であった。今回、哺乳類成体でも心筋炎後に心筋細胞増殖を伴う心筋再生が起きること、そしてその再生にSTAT3が必須であることを明らかにした。この結果は、哺乳類成体においてもゼブラフィッシュや新生仔マウスと同様に、STAT3を介した心筋細胞増殖機構が存在することを示唆している。

本研究では、炎症傷害を受けた心筋細胞で構造的、量的再生機構が活性化することを見出した。この成果は、臨床における心筋炎病態に関する理解を深める上で、また同時に、心臓に内在する再生能力について新しい知見を加えるという点で重要な意義を有すると考えられる。心筋炎後の組織修復機構に関する研究がさらに進展し、心臓の内因性再生能力を利用した新規心疾患治療が実現することを期待する。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　宮脇　昭光　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
主 査	教授	藤尾　慈
副 査	教授	堤　康央
副 査	教授	水口　裕之

論文審査の結果の要旨

哺乳類の心筋細胞は、生直後に分裂能を実質的に失うため、哺乳類成体(Adult)の心臓は再生能が低い臓器とされてきた。本研究は、心筋炎が自然治癒するという特徴に着目し、マウス心筋炎モデルを用いて、心臓の内因性再生機構を明らかにしたものである。

本研究において、学位申請者は、心筋細胞の構造的変化という観点と、心筋細胞増殖という観点から、心臓の再生機構を解析した。前者においては、プロテオミクスを用いた探索的研究を行い、心筋細胞再生において細胞骨格の再構築が惹起されること、その過程にモエシン分子が重要であることを見出した。これまで、心筋細胞におけるモエシンの機能を検討した研究はなく、新規性が高い研究となった。後者においては、心筋炎において成体心筋細胞が高頻度で増殖することを明らかにした。従来、哺乳類成体心筋細胞はほとんど増殖しないものとされてきたことから、この発見は既成概念を覆すものであり、今後の発展が期待される。

以上、本研究は、哺乳類の内因性心筋再生機構を解明し、新たな学術領域を開拓したものであることより、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。