

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09243

研究課題名(和文) 心機能回復のための心筋細胞における細胞極性因子aPKCの役割の解明

研究課題名(英文) Functional Recovery of Failing Heart by Mechanical Unloading associated with c-Myc Expression via aPKC-FoXOs Pathway

研究代表者

河村 拓史 (Kawamura, Takuji)

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：60839398

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：心不全患者に対する新規治療方法の開発のため、我々は補助人工心臓でのunloadingによる心機能回復に着目し、心筋細胞での細胞極性因子aPKCと転写因子FoXOs/c-Myc経路の解析を行った。心筋組織検体の解析により、補助人工心臓治療でのunloadingにより、心筋細胞でのaPKC-FoXOs/c-Myc経路が活性化することを見出し、培養心筋細胞に対する伸展刺激の解除によりaPKC-FoXOs/c-Myc経路の活性化を示した。機械的unloadingにより、心筋細胞におけるaPKC-FoXOs/c-Myc経路が心機能回復に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

補助人工心臓治療でのunloadingによる自己心のfunctional recoveryに関しては、臨床的に認識されて以降、様々な研究が進められてきた。しかしながら、その多くが心筋細胞の形態的な変化や、代謝状態の変化等の観察研究として行われており、細胞内の分子メカニズムを検討した研究は皆無であった。本研究では、基礎研究としてこれまでに主に細胞極性の制御、臓器創生の過程で重要とされてきた細胞極性因子aPKCの知見を、新規心不全治療法の開発につながる可能性のある事象の解明へと応用する研究であり、学術的独自性は大きく、その結果により新たな分野を開拓できる創造性を有するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：To develop a novel therapeutic approach for patients with heart failure, we focused on the functional recovery of failing heart by unloading with the left ventricular assist device (LVAD) and analyzed the cell polarity factor aPKC and the transcription factor FoXOs/c-Myc pathway in cardiomyocytes. Analysis of myocardial tissue samples revealed that unloading of cardiac myocytes during therapy for ventricular assist devices activates the aPKC-FoXOs/c-Myc pathway in cardiac myocytes, and that the aPKC-FoXOs/c-Myc pathway is activated by de-stretch of cultured cardiomyocytes. Functional recovery of failing heart with LVAD may be induced by the aPKC-FoXOs/c-Myc pathway in cardiomyocytes.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：細胞極性因子 心筋細胞 心不全

## 1. 研究開始当初の背景

現在、日本における心不全による年間死亡者数は4万人を超え、今後高齢化に伴いさらに心不全患者数は増加することが予測されている。心不全に対する標準治療として、病態に応じて薬物治療、外科治療が選択されるが、さらに症状が進行した末期心不全に対しては、補助人工心臓、心臓移植が適応となる。しかしながら、補助人工心臓においては、抗凝固療法に伴う出血や感染などの合併症、心臓移植においては深刻なドナー不足や免疫抑制剤の副作用などの問題があり、これらを補完または代替する新たな治療方法の開発が望まれる。

末期心不全に対する新たな治療方法開発のための手がかりとして、臨床的に観察される補助人工心臓治療での自己心機能の回復 (functional recovery) が挙げられる。つまり、末期心不全に対して全身循環を保つために用いられた補助人工心臓治療で自己心の仕事量が減少すること (unloading) により、一定の割合で心機能が回復し補助人工心臓を離脱できる場合が認められたことから、このメカニズムを解明することで、新たな治療介入に繋げる手がかりとすることである。この現象の報告は2000年代始めになされ、その後この分野で様々な研究が進められてきたが、未だ unloading と functional recovery を結びつける分子メカニズムは解明されていない。

これまでに我々は、血管内皮細胞における細胞極性因子 aPKC による細胞増殖の制御機構に関する研究を行ってきた。また、心筋細胞における転写因子 c-Myc の発現は、これまでに c-Myc のノックアウトマウスに対する心臓圧負荷モデルや心筋梗塞モデルによる検討で、グルコース代謝の制御によるエネルギー産生、心筋細胞構成タンパク質の発現亢進による心収縮力の増強等の報告があり、上記の functional recovery との関連が示唆されるが、心不全心での c-Myc 発現亢進により実際に functional recovery を誘導できるかに関しては検討が必要と考えられる。また、心不全の心臓の unloading と aPKC 活性の関連に関しては、細胞レベルで unloading を定義した上で、aPKC 活性との関連等の検討など、さらなる研究が必要と考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究において我々は、補助人工心臓治療での unloading による自己心の functional recovery について、新規治療介入方法の開発を念頭においた、aPKC-c-Myc pathway を中心とした分子メカニズムの解明を行うことを目的としている。

## 3. 研究の方法

臨床検体を用いた組織学的な検討により、心筋細胞における unloading と aPKC-c-Myc pathway の関連性の検討を行う。すなわち、LVAD 植込手術時、心臓移植時の心臓組織を比較検討する事で心不全心の unloading に関する心筋細胞に対する影響を行う。また、培養心筋細胞を用いて、機械的刺激により unloading を模した状況を作成し、分子メカニズムの解明を行う。すなわち、伸展培養された心筋細胞を伸展解除することで unloading の状況を再現し、aPKC-c-Myc pathway の検討を行う。

## 4. 研究成果

末期心不全患者28症例において、左心室駆出率はLVAD前後で有意に改善していた(右図: LVAD前: 18 ± 6.5%、LVAD後: 24 ± 12%、P = 0.009)。

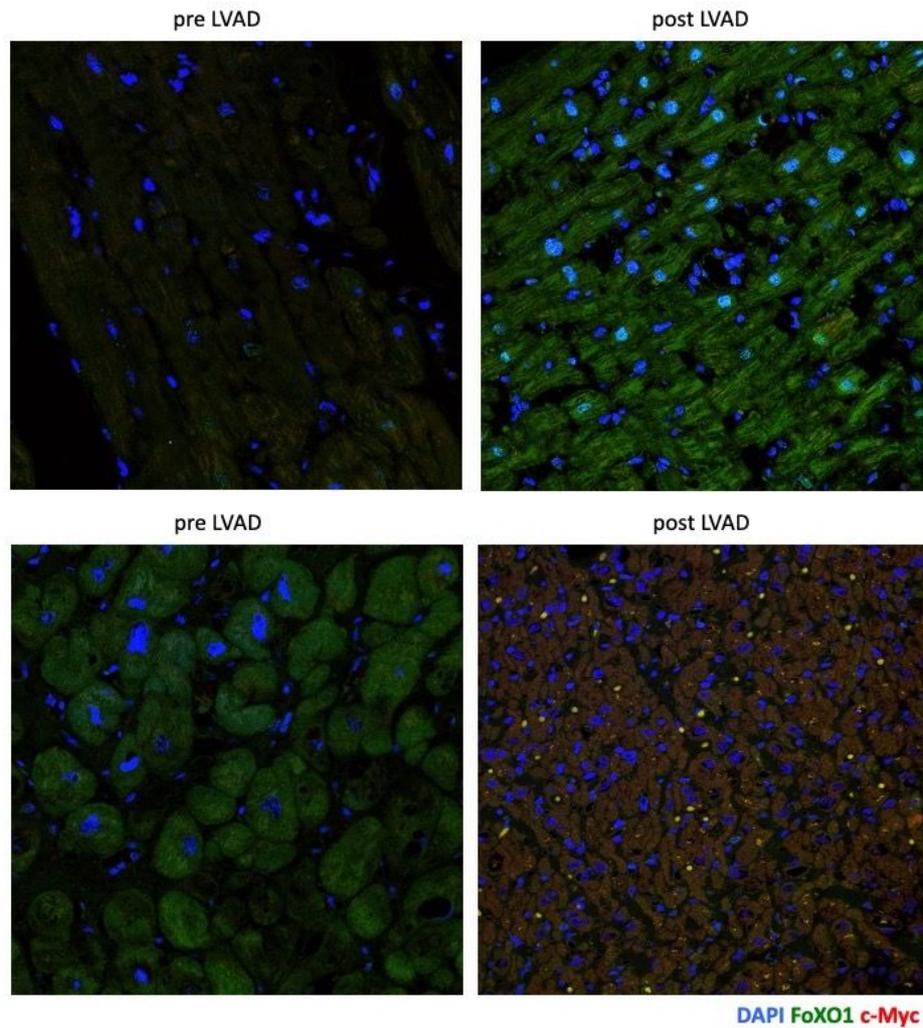
Baseline Characteristics of Patients Undergoing Left Ventricular Assist Device Implantation

Characteristics (n=28)		
Age at LVAD implantation (mean ± SD), y		40 ± 14
Sex, M/F		21 / 7
Type of heart failure, %	Dilated cardiomyopathy	82
	Ischemic cardiomyopathy	18
Ejection fraction (mean ± SD), %		18 ± 6.5
LVAD duration (mean ± SD), d		866 ± 399

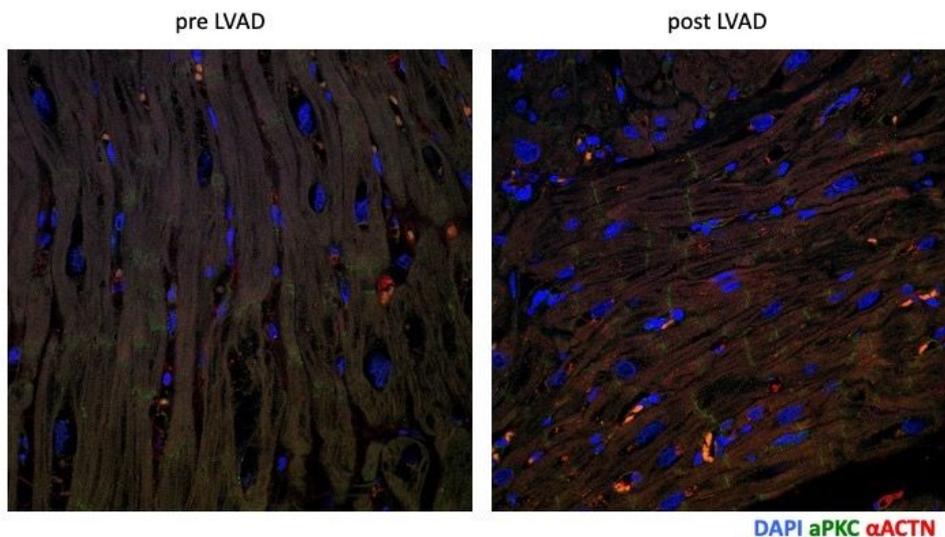
Echocardiographic Parameters of Patients Before and After LVAD

	pre LVAD	post LVAD	P
LVEDD, mm	70 ± 9	60 ± 12	<0.05
LVESD, mm	65 ± 9	54 ± 13	<0.01
LVEF, %	18 ± 6.5	24 ± 12	<0.01

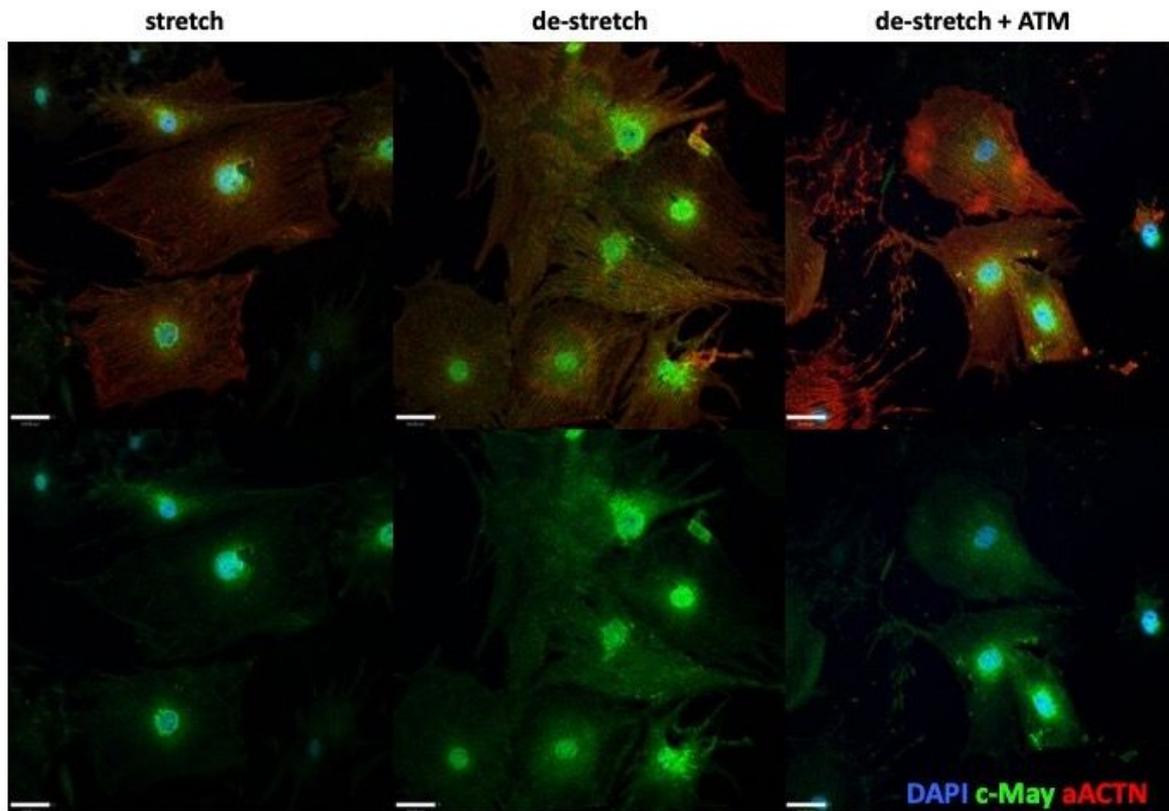
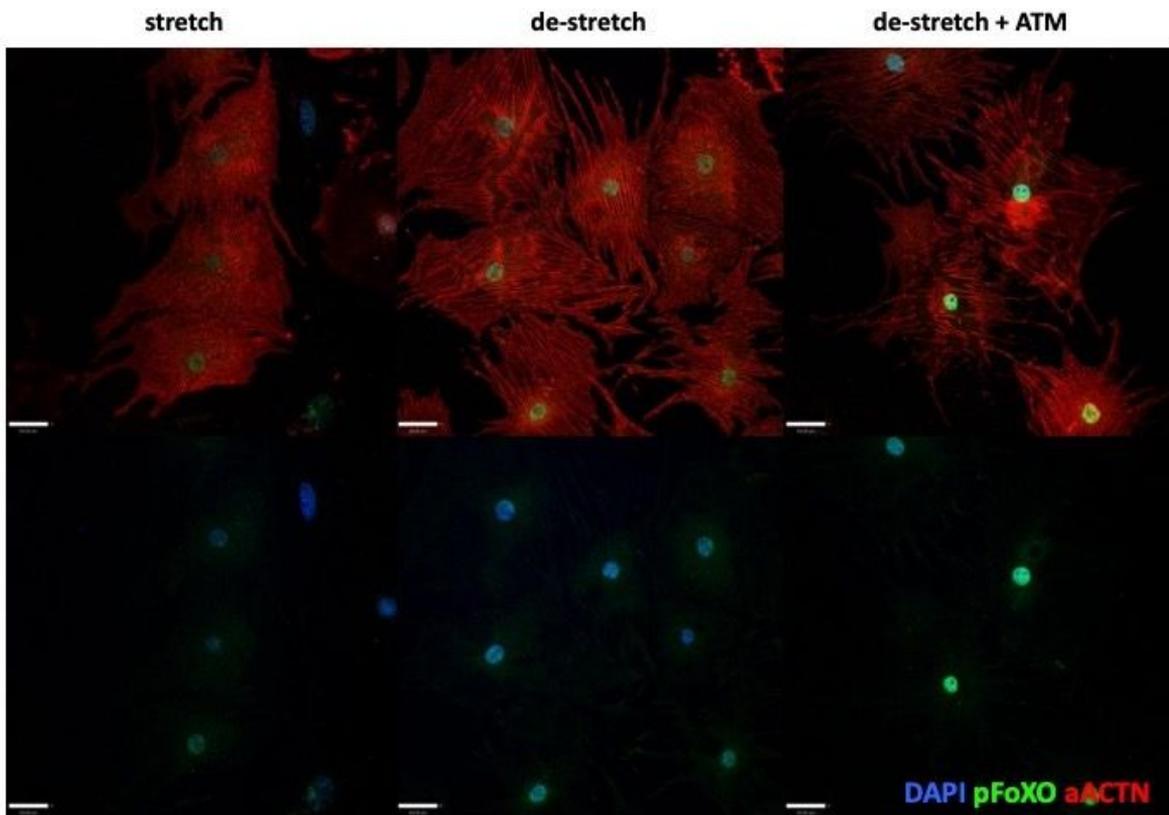
心筋細胞の細胞核における c- Myc および pFoX0 の蛍光強度は、LVAD 後に有意に増加していた (下図: c - Myc ;LVAD 前:  $7.5 \pm 1.9$ 、LVAD 後:  $14.6 \pm 2.3$ 、 $P = 0.0005$ 、pFoX0 ;LVAD 前:  $17.2 \pm 2.0$ 、LVAD 後:  $44.7 \pm 6.3$ 、 $P < 0.0001$ )。



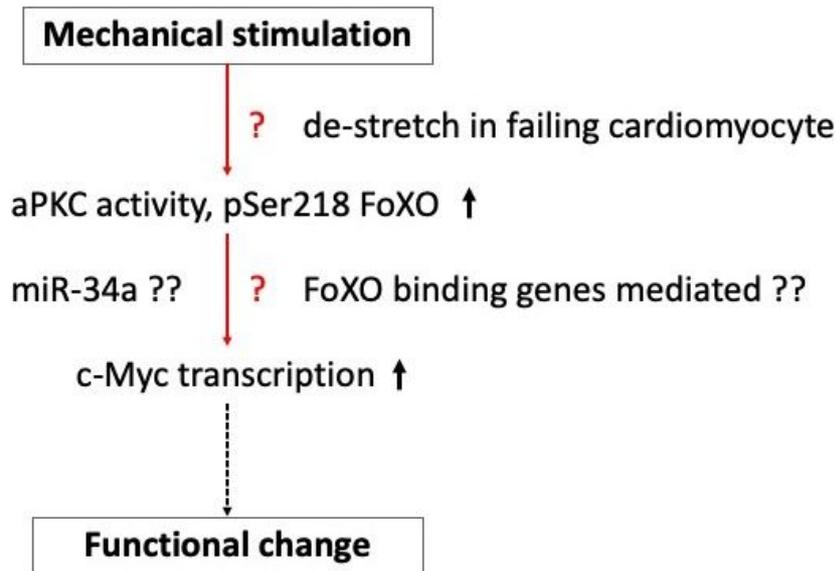
また、活性化 aPKC の蛍光強度は、LVAD 後心筋細胞の介在板 (ICD) 細胞質内いずれも増加していた (下図: ICD の活性化 aPKC ;LVAD 前:  $1.2 \pm 0.3$ 、LVAD 後:  $2.4 \pm 0.6$ 、 $P = 0.032$ 、細胞質内の活性化 aPKC ;LVAD 前:  $2.9 \pm 0.5$ 、LVAD 後:  $4.1 \pm 0.7$ 、 $P = 0.029$ )。



また、マウス新生児心筋細胞では、伸展培養 (stretch)と比較し、伸展解除 (de-stretch)により aPKC-FoX0s/c-Myc 経路の活性化を認めた (下図: c- Myc ;stretch : 132 ± 13、de-stretch : 169 ± 8、P = 0.035、 pFoX0s ;stretch : 47 ± 3.5、de-stretch : 70 ± 5、P = 0.0004、活性化 aPKC ;stretch : 2.2 ± 0.1、de-stretch : 3.2 ± 0.2、P = 0.016 )、



以上の結果から、心不全に対する機械的 unloading による心機能回復は、心筋細胞における aPKC-FoXOs 経路による c- Myc の発現亢進により誘導される可能性が示唆されたと考えている。しかしながら、機械的 unloading がどのように aPKC を活性化しているのか、また活性化 aPKC によりリン酸化された FoXOs がどのように c-Myc の発現を亢進させているのかについては本研究では明らかになっていない(下図)。今後さらなる分子生物学的な検討を加えた上で、治療介入につながる分子メカニズムの解明を行う必要があると考えられる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 河村拓史、吉岡大輔、川村匡、齋藤哲也、松浦良平、河村愛、三隅祐輔、平将生、島村和男、宮川繁
2. 発表標題 aPKC-FoXOs/c-Myc pathwayによる機械的unloadingの心機能回復メカニズム
3. 学会等名 第60 回日本人工臓器学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takuji Kawamura, Daisuke Yoshioka, Masashi Kawamura, Tetsuya Saito, Ai Kawamura, Yusuke Misumi, Koichi Toda, Shigeru Miyagawa
2. 発表標題 Functional Recovery of Failing Heart by Mechanical Unloading associated with c-Myc Expression via aPKC-FoXOs Pathway
3. 学会等名 Transplantation Science Symposium 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	河村 愛  (Kawamura Ai)  (10838923)	大阪大学・医学部附属病院・助教    (14401)	
研究分担者	秦 広樹  (Hata Hiroki)  (80638198)	大阪大学・医学系研究科・特任准教授(常勤)    (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------