

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：94301

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2010～2014

課題番号：22229007

研究課題名(和文)統合的心筋梗塞治療に向けた新たな分子レベルでの基礎研究

研究課題名(英文)Integrative approaches toward the development of next-generation therapeutics for myocardial infarction

研究代表者

佐藤 匠徳(Thomas N., Sato)

株式会社国際電気通信基礎技術研究所・佐藤匠徳特別研究所・所長

研究者番号：60548759

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 127,400,000円

研究成果の概要(和文)：1.臓器・組織の再生に必須な「Angiocrine因子」を同定した。2.臓器間を結ぶ新規の「臓器間血管網」を同定した。3.心筋梗塞における線維芽細胞特異的な細胞内エネルギー代謝機構の阻害をターゲットとした薬剤が梗塞後の線維芽細胞の増殖を抑制し、心臓の線維化を最小限化し血管形成を促進することで、心機能の向上を誘導することを示した。4.血管新生における、神経細胞の新たな役割とそのメカニズムを明らかにした。5.心機能の異常に伴う合併症の発症に関与している因子群を同定し、それらの作用機序に関する知見を得た。

研究成果の概要(英文)：1. Identification of a family of angiocrine factors that are essential for organ regeneration. 2. Identification of a new class of inter-organ vascular network. 3. Identification of a drug that inhibits fibroblast-specific intracellular metabolism. We show that inhibition of fibrosis combined with increased cardiac angiogenesis caused by this drug improve cardiac function in myocardial infarction. 4. Identification of a new role of neurons in angiogenesis. 5. Identification of a family of cardiac factors that play critical roles in dysfunction of non-cardiac organs/tissues in cardiac diseases.

研究分野：医歯薬学

キーワード：分子心臓病態学

## 1. 研究開始当初の背景

心臓の機能障害は現代社会で最も多い疾患の一つであり、それを引き起こす原因の一つが「心筋梗塞」である。心筋梗塞とは心臓の冠動脈が様々な原因でつまることにより、心臓に酸素がいなくなり心筋が死んでしまうために、心機能が衰える病気である。現在、心筋梗塞の治療には主に三つの方法が考えられている。ひとつは、死んだ心筋を再生させる方法(心筋再生治療)。二つ目は、つまった血管を補うために新しい血管を心臓につくる方法(血管再生治療)。心筋梗塞を起こした心臓には死んだ心筋の埋め合わせをするために、そこに瘡蓋ができる(線維化)のために、心臓が機能し難くなり、また瘡蓋は心筋再生また心血管再生の邪魔をする。したがって、三つめの治療方法はこの心臓の線維化をある程度抑制するという方法である(線維化抑制治療)。現在、これら三つを個々にターゲットとした研究は数多くあるものの、これら全てを統合的に制御できる段階には至っていない。

## 2. 研究の目的

本研究プロジェクトの目的は、心筋梗塞において、心筋再生の促進、線維化の抑制、血管新生、これら三つを統合的にターゲットとした治療に結びつく基礎研究により、心筋梗塞およびそれに関連する疾患の診断・治療・予防に役立つ可能性を秘めた分子ターゲットの同定とそれらの作用機序の解明である。

## 3. 研究の方法

生化学的手法、トランスクリプトームやメタボロームなどの網羅解析、ゲノム編集技術を培養細胞の実験系、マウスの心筋梗塞モデル、ゼブラフィッシュの循環器系形成・虚血・臓器特異的アブレーション・再生モデルに適用し、心筋梗塞における心筋細胞死・血管形成・線維化の密接な関連性、および心臓と他臓器の連関システムの形成・破綻・再生・疾患の作用機序を解明する。また、これらの成果の心筋梗塞および心疾患の診断・治療・予防への応用を目指す。

## 4. 研究成果

これまでの研究成果は大きく分けて以下の5つである。

- (1) 臓器・組織の再生に必須な血管内皮細胞由来の分泌性たんぱく質群である Angiocrine 因子を、コーネル大学の Shahin Rafii の研究グループとの共同研究で同定した。マウスの組織再生モデルを用いて、それぞれの臓器・組織にお

いて、特異的は血管細胞由来の Angiocrine 因子が存在していることを突き止め、それらが、それぞれの臓器・組織の再生に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

- (2) 心臓をふくめた臓器の再生には、その臓器内の血管を再生することは必須であるが、それだけでは十分ではない。再生される臓器は、他の臓器を血管系により繋げる必要がある。これにより、身体全体としての恒常性維持のための、多臓器間の液生因子による相互作用が確立される。しかし、臓器間を連結する血管網については今まであまり詳細がよくわかっていなかった。我々はゼブラフィッシュの血管形成モデルを用いて、臓器間を結びつけるこれまでよくわかっていなかった「臓器間血管網」を同定し、それらが臓器形成に果たす役割に関する新たな知見を得た。
- (3) 心筋梗塞において、心臓は虚血(低酸素、また栄養飢餓)状態になる。心筋細胞を含めた多くの心臓にある細胞は虚血状態においては、酸素・栄養(グルコースなど)不足のため、十分なエネルギーを産生できなくなり細胞自体が死んでしまう。一方、線維芽細胞は、虚血環境下でも、生存し増殖することができる。われわれは、その原因のひとつに、線維芽細胞が、虚血環境下では、通常とは違う、虚血特異的な細胞内エネルギー代謝経路をつかって、低酸素、栄養飢餓状態でも、生存に必要なエネルギーと生体高分子を生成していることを見いだした。また、この虚血特異的な細胞内エネルギー代謝を阻害することのできる薬剤をも同定した。さらに、この薬剤をマウスの心筋梗塞モデルに投与することで、心筋梗塞後の線維化を減少させることに成功(図1)、また、この線維化減少と同時に血管形成を促進させる(図2)ことで、心筋梗塞後の心機能回復を誘導させることにも成功した(図3)。心筋梗塞における線維芽細胞特異的な細胞内エネルギー代謝機構を同定し、それを阻害する特異的薬剤を発見した。マウスの心筋梗塞モデルを用いて、この薬剤が、梗塞後の線維芽細胞の増殖を抑制することで、心臓の線維化を最小限化し、心機能の向上を誘導することを示した。この成果をもとに、心筋梗塞治療を目的としたこの薬剤の利用に関する特許を出願した。

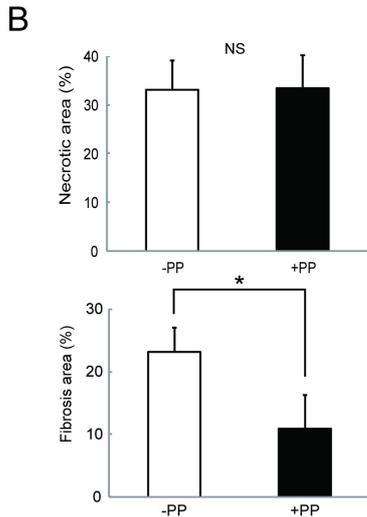
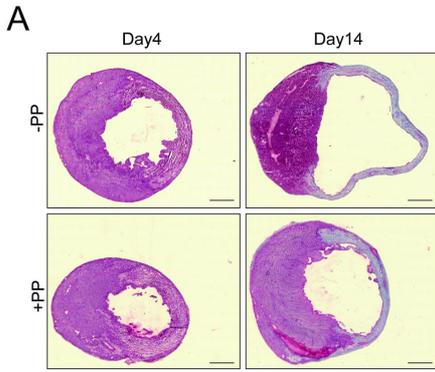


図 1. PP の心筋梗塞モデルマウスへの投与による心臓線維化の抑制

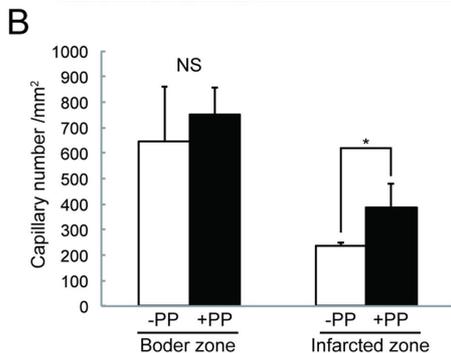
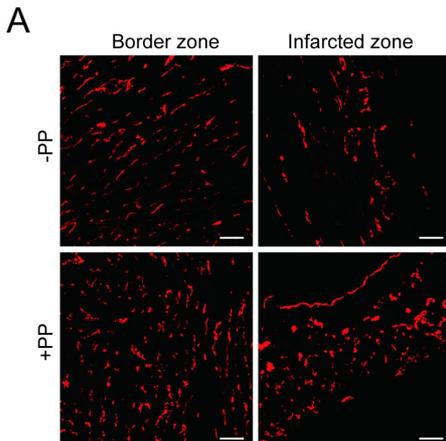


図 2. PP の心筋梗塞モデルマウスへの投与による心臓の血管新生の促進

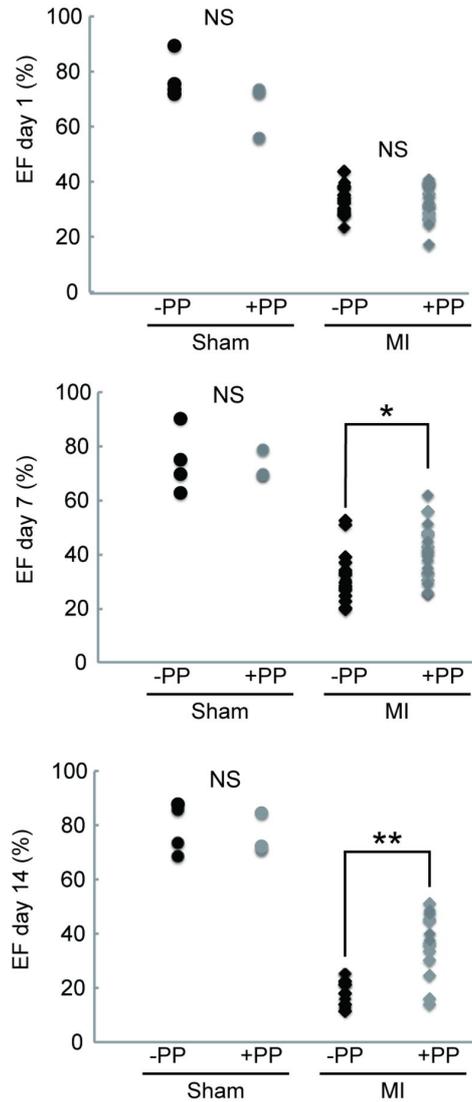


図 3. PP の心筋梗塞モデルマウスへの投与による心機能回復

- (4) 血管新生における、神経細胞の新たな役割とそのメカニズムを、慶応大学の久保田らのグループとの共同研究で明らかにした。我々は、神経細胞と血管内皮細胞の VEGF を介した相互作用が、この新たな血管新生メカニズムに重要な役割を担っていることを、マウスの血管新生モデルで示した。
- (5) 我々は、トランスクリプトーム・メタボロームという網羅解析をマウスの心筋梗塞モデルに適用することで、心機能の異常に伴う他臓器の機能障害(つまり合併症)の発症に関与している因子群を同定した。また、これらの因子の心筋梗塞に伴う合併症における役割、および、そ

これらの作用機序を、マウスおよびゼブラフィッシュのモデルとゲノム編集を組み合わせることで研究を行った。その結果、心臓由来の他臓器の機能に関わる新規因子群を同定し、それらの作用機序を明らかにした。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

Akanuma, T., Chen, C., Merks, R.M.H., Sato, T.N., Memory of cell shape biases stochastic fate decision-making despite mitotic rounding. *Nature Communications* (2016), 印刷中、査読有  
Okabe K, Kobayashi S, Yamada T, Kurihara T, Tai-Nagara I, Miyamoto T, Mukouyama YS, Sato TN, Suda T, Ema M, Kubota Y. Neurons limit angiogenesis by titrating VEGF in retina. *Cell* (2014), 159, 584-596, 査読有, DOI:10.1016/j.cell.2014.09.025  
M. Murakoshi, K. Saiki, K. Urayama, T.N. Sato, An Anthelmintic Drug, Pryvium Pamoate, Thwarts Fibrosis and Ameliorates Myocardial Contractile Dysfunction in a Mouse Model of Myocardial Infarction. *PLoS ONE* (2013), 8: e79374, 査読有 DOI:10.1371/journal.pone.0079374  
Goldman, O., Han, S., Sourisseau, M., Dziedzic, M., Hamou, W., Corneo, B., D'Souza, S., Sato, T.N., Kotton, D.N., Bissig, K-D., Kalir, T., Jacobs, A., Evans, T., Evans, M.J., and Gouon-Evans, V. KDR Identifies a Conserved Human and Murine Hepatic Progenitor and Instructs Early Liver Development. *Cell Stem Cell* (2013), 12: 748-760, 査読有, DOI:10.1016/j.stem.2013.04.026  
Omae, M., Takada, T., Yamamoto, S., Nakajima, H., Sato, T.N. Identification of inter-organ vascular network: Vessels bridging between organs. *PLoS ONE* (2013), 8: e65720, 査読有, DOI:10.1371/journal.pone.0065720  
B.S. Ding, D.J. Nolan, P. Guo, A.O.abazadeh, Z. Cao, Z. Rosenwaks, R.G. Crystal, M. Simons, T.N. Sato, S. Worgall, K. Shido, S.Y. Rabbany, S. Rafii, Endothelial-derived angiocrine signals induce and sustain regenerative lung alveolarization. *Cell* (2011), 147: 539-553, 査読有, DOI:10.1016/j.cell.2011.10.003

B. Ding, D.J. Nolan, J.M. Butler, D. James, A.O. Babazadeh, Z. Rosenwaks, V. Mittal, H. Kobayashi, K. Shido, D. Lyden, T.N. Sato, S.Y. Rabbany, S. Rafii, Inductive angiocrine signals from sinusoidal endothelium are required for liver regeneration. *Nature* (2010), 468: 310-315, 査読有, DOI:10.1038/nature09493

[学会発表](計 8 件)

佐藤匠徳 "Controlling fibrosis by design via targeting intracellular metabolism" 第 2 回日本腎臓研究会 (2nd Japan Kidney Conference)、2015 年 1 月 17 日、経団連会館 2 階国際会議場 (東京都・千代田区)  
佐藤匠徳 細胞内代謝デザインによる疾患治療、第 13 回 CRC (Cardiovascular Research Conference) 2014 年 11 月 12 日、山の上ホテル (東京都・千代田区)  
佐藤匠徳 Beyond "What is Life? (1994)" サマースクール/岡崎総合バイオサイエンスセンター総合研究大学院大学「統合生命科学教育プログラム」2014 年 8 月 27 日-28 日、自然科学研究機構 岡崎総合バイオサイエンスセンター (愛知県・岡崎市)  
佐藤匠徳 細胞内代謝調節を自在に操ることで細胞の生死をデザインする: ヒト疾患治療への応用を目指して、第 7 回 The Heart 研究会、2014 年 3 月 1 日、東京国際フォーラムホール D5 (東京都・千代田区)  
佐藤匠徳 Heart Repair with and without Blood Vessel、第 10 回宮崎サイエンスキャンプ、2014 年 2 月 14 日、シーガイアコンベンションセンター (宮城県・宮崎市)  
佐藤匠徳 細胞内代謝調節を自在に操ることで細胞の生死をデザインする: ヒト疾患治療への応用を目指して、第 17 回西スクリプスバイオメディカルフォーラム、2013 年 11 月 30 日、新大阪ワシントンホテルプラザ (大阪府・大阪市)  
Sato, T.N. Heart Repair with and without Blood Vessel, Cornell University, Department of Biomedical Engineering 2013 年 11 月 6 日、ニューヨーク (アメリカ合衆国)  
佐藤匠徳 特別講演 Starving cardiac fibroblast to death by sedating mitochondrial energy metabolism、成人病の原因・病態の解明に関する研究助成 第 19 回研究発表会 (TMFC) 2013 年 7 月 7 日、セントレジスホテル大阪 11 階アスターボールルーム (大阪府・大阪市)

〔図書〕(計 2 件)

Sato, T.N. Springer Verlag,  
Mechanical and Chemical Signaling  
in Angiogenesis. (ed. Cynthia A.  
Reinhart-King), 2013, 1-17  
山田親臣・佐藤匠徳、中外医学社、  
Annual Review 循環器 2012、2012、54-60

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：虚血性疾患の治療又は予防のための薬  
剤及びその利用

発明者：佐藤匠徳、村越幹昭

権利者：奈良先端科学技術大学院大学

種類：特許

番号：2013-028390

出願年月日：2013年2月15日

国内外の別：国内

〔その他〕

<http://www.atr.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 匠徳 (SATO, Narutoku)

株式会社国際電気通信基礎技術研究所  
(ATR)・佐藤匠徳特別研究所・所長

研究者番号：60548759

(2) 研究分担者

赤沼 啓志 (AKANUMA, Takashi)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイ  
エンス研究科・助教

研究者番号：50450721