

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22616

研究課題名(和文) 選択的老化細胞除去による次世代の心房細動治療法の開発

研究課題名(英文) Senolysis ameliorates pathologies in atrial fibrillation

研究代表者

清水 逸平(Shimizu, Ippei)

新潟大学・医歯学総合研究科・特任准教授

研究者番号：60444056

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々は心房細動が加齢性疾患としての側面を有する点に着目し、「老化」をキーワードに未だ未解明な心房細動の病態を明らかにしたいと考えるに至った。タモキシフェン誘導型心房老化マウスを開発したところタモキシフェン投与後に心房細動を発症し、選択的老化細胞除去薬により心房老化マウスの心房細動が消失した。加齢や肥満とともに分泌型線維化促進分子(AFP)のレベルが血液中で上昇し、AFPノックアウトマウスでは心房の線維化が抑制されることもわかった。選択的老化細胞除去、分泌型線維化促進分子の抑制が心房細動の次世代の治療法となる可能性が強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心房細動に対する非侵襲的な根治的治療法が存在しない背景には、病態に未だ未解明な点が多く存在することが一因と考えられる。そこで我々は、心房細動が加齢性疾患としての側面を有する点に着目し、「老化」をキーワードに、未だ未解明な心房細動の病態を明らかにしたいと考えるに至った。本研究課題により選択的老化細胞除去、分泌型線維化促進分子の抑制が心房細動の次世代の治療法となる可能性が強く示唆された。健康寿命の延伸という観点から大変重要な知見と考えられ、さらに研究を発展させたいと考えている。

研究成果の概要(英文)：To test the pathogenic role of aging in atrial fibrillation (Afib), we generated tamoxifen inducible atrial aging model (iAtrial-aging). After tamoxifen injection, we found iAtrial-aging model developed atrial fibrillation. Administration of senolytics suppressed Afib. With aging and obesity, we also found secreted type pro fibrotic protein (AFP) increased in circulation. Genetic suppression of this molecule ameliorated atrial fibrosis. Approach with senolysis, or suppression of AFP would become next generation therapies for Afib.

研究分野：循環器

キーワード：心房細動 選択的老化細胞除去 老化 分泌型線維化促進分子

1. 研究開始当初の背景

心房細動は遺伝的背景等により若年齢で発症することもあるが、肥満や糖尿病、高血圧、心不全といった疾患や老化に伴い発症リスクが上昇するため、加齢性疾患としての側面を有する。心房細動有病率は本邦において70歳代で男性3.44%、女性1.1%、80歳以上では男性4.43%、女性2.19%と高く、高齢化の進行に伴い心房細動罹患患者は今後さらに増加してゆくものと考えられる。心房細動は1) 脳梗塞をはじめとする全身の塞栓症、2) 頰脈に伴う心不全、が臨床上問題となり、抗凝固薬や脈拍コントロールが主たる保存的治療法となる。カテーテルアブレーションにより根治を目指すことも可能となっているが、再発に伴い追加治療を要する症例も多く、治療リスクに加え医療経済という観点からも未だ満たされない医療ニーズが存在する。心房細動に対する非侵襲的な根治的治療法が存在しない背景には、病態に未だ未解明な点が多く存在することが一因と考えられる。そこで我々は、心房細動が加齢性疾患としての側面を有する点に着目し、「老化」をキーワードに、未だ未解明な心房細動の病態を明らかにしたいと考えるに至った。

2. 研究の目的

本研究課題において世界に先駆けて我々が開発したタモキシフェン誘導型心房老化マウスを用い、心房細動における細胞老化の病的意義を明らかにしたいと考えた。また選択的老化細胞除去、分泌型線維化促進分子抑制による新たな心房細動治療法の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 心房細動モデルマウス作製方法の確立

心房特異的細胞老化マウス(心房老化マウス(iAtrial-agingマウス))を作製し、心房細動を誘導できるか検討を行なう。心房特異的 Cre マウス(NPPA-4Cre)は Vincent Christoffels (アムステルダム大学) から贈与されたものを使用する。心房老化マウスは、タモキシフェンにより Cre リコンビナーゼが誘導される。タモキシフェン投与後に心房の表現型を検討し、心房細動が誘導できるか検討した。

(2) 老化細胞選択的除去薬による心房細動抑制モデルの確立

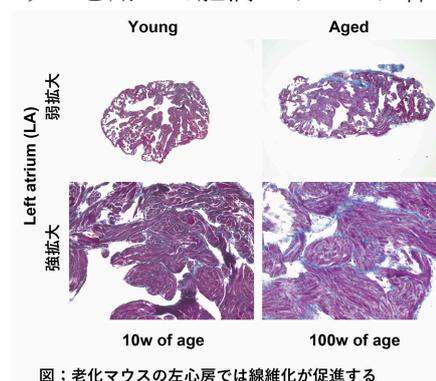
老化細胞を選択的に除去する効果を有する薬剤(選択的老化細胞除去薬)が存在することが研究開始時点で明らかとなっていた。選択的老化細胞除去により老化形質が抑制され、幹細胞が若返ることで組織の修復が促進することも報告されていた。ダサチニブとケルセチン(D+Q)は選択的老化細胞除去薬として注目されている。そこで心房老化マウスにD+Qを投与して、心房に対しても選択的老化細胞除去効果を有するか検討した。また、その結果心房細動が抑制されるか検討を行うこととした。

(3) 分泌型線維化促進分子の探索

肥満モデルマウスにおいて分泌型線維化促進分子(AFP)のレベルが上昇することは予備的検討の結果明らかになっていたが、加齢とともにAFPが血液中で上昇するか老化マウスの血液検体を用いて検討する。AFPノックアウトマウスを用いて肥満ストレスに伴う心房の線維化が抑制されるか検討する。

4. 研究成果

若年齢(10週齢)と老齢(100週齢)マウスの心房を用いて検討した結果、100週齢マウスの心房では著明に心房の線維化が促進していた(右図)。また、細胞老化マーカーであるp53のタンパク発現が上昇していた。心房における細胞老化の意義を検討するために心房老化マウスを作成し検討を行った。心房特異的 Cre マウス(NPPA-4Cre)は Vincent Christoffels (アムステルダム大学) から贈与されたものを用いて作製した。心房老化マウスでは、タモキシフェン投与後



(1mg x 2日間) 1週間で左心房の拡大と線維化が生じ、心房細動を発症した(右図 A-C)。p53 を標的とした免疫染色、TUNEL 染色、電子顕微鏡を用いた検討の結果、心房老化マウスの左心房では細胞老化に加え細胞死と線維化が生じていた。心房老化マウスにダサチニブおよびケルセチン (D+Q) を投与したところ、心房の線維化が抑制され心房細動の発症も減少した。また、その際に心房の外膜側にステムセル様の細胞が増加しており、組織の修復に関与している可能性が示唆された。ダサチニブは抗がん剤であり副作用が懸念される。そのため生理的な成分で選択的老化細胞除去効果を持つものを探索したところ、ハーブ成分 H(SenoH) が選択的老化細胞除去効果を持つことが強く示唆された。肥満マウスに SenoH を投与したところ内臓脂肪の老化マーカーが減少し、全身の糖利用障害も改善し骨格筋機能の改善を認めた。細胞老化に陥った内皮細胞に SenoH を添加したところ、老化細胞は選択的に除去された。RNAseq 解析を用い、その詳細な分子機構の検討を行なっている。また、今後心房老化マウスに SenoH を投与した際の表現系を検討する予定である。老化、をキーワードとしバイオインフォマティクス的手法を用いて検討した結果、老化に伴い血液中で線維化を促進するタンパクが増加することがわかり、加齢性線維化促進タンパク (AFP) と命名した。AFP は肥満ストレスに伴い褐色脂肪で主に産生され、全身の臓器の線維化を促進することも明らかになった。また、過剰な脂肪酸の流入→cFOS→AFP という経路で AFP の発現が上昇することもわかった。AFP の全身ノックアウトマウス、及び褐色脂肪特異的 AFP ノックアウトマウスに肥満ストレスを加え検討したところ、心房の線維化が抑制されることがわかった。AFP に対するペプチドワクチンを開発し、心房細動に対する治療法となりうるか引き続き検討を行っている。また AFP 過剰発現モデルマウスも現在作成中であり、心房の線維化が促進するか今後検討を行う予定である。AFP の中和抗体を作成できるか共同研究者と検討を重ねているが、中和抗体作成、もしくはペプチドワクチンの系で AFP を抑制することで心房細動に対する自制代の治療法開発を行うことができると考えられ、引き続き精力的に検討を行っているところである。AFP は加齢とともにヒト及びマウスの血液中で上昇すること、コントロール群と比較し心房細動患者で上昇することも明らかになった。年齢を補正した検討において、心房細動患者で AFP のレベルが上昇することから何らかの遺伝的背景が AFP の発現レベルの調整に関わっている可能性も示唆された。これらの検討から、選択的老化細胞除去、AFP 抑制が次世代の心房細動治療法となりうることが強く示唆された。

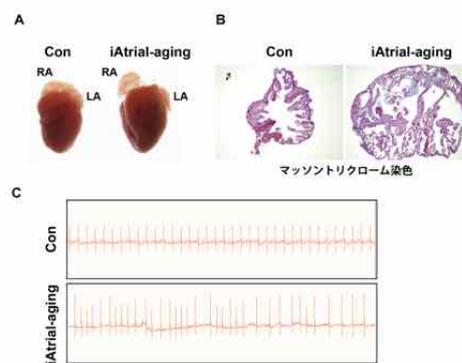


図 心房特異的Mdm2抑制モデルマウス(iAtrial-agingマウス)の表現型
iAtrial-agingマウスでは、心房のサイズが拡大し(A)、左心房が線維化し(B)、心房細動が生じる(C)ことがわかっている。
(RA:右心房、LA:左心房)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 清水逸平、吉田陽子、南野徹 |
| 2. 発表標題 Pathological roles of senocules in sync-aging and cardiovascular disorders |
| 3. 学会等名 日本循環器学会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 清水逸平 |
| 2. 発表標題 老化促進分子を標的とした次世代の加齢性疾患治療法開発に向けたあゆみ |
| 3. 学会等名 第一回レドックスR&D戦略委員会シンポジウム（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 清水逸平、吉田陽子、南野徹 |
| 2. 発表標題 徹底討論高齢者心不全、老化促進分子を標的とした次世代の心不全治療法開発に向けた取り組み |
| 3. 学会等名 第257回日本循環器学会関東甲信越地方会（招待講演） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|----------------------------------|
| 1. 発表者名 清水逸平、吉田陽子、南野徹 |
| 2. 発表標題 老化促進分子による加齢同期メカニズムの解明 |
| 3. 学会等名 第41回日本炎症・再生医学会（招待講演） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名 清水逸平、吉田陽子、南野徹 |
| 2. 発表標題 老化促進代謝物質による加齢同期メカニズムの解明 |
| 3. 学会等名 日本抗加齢協会第四回学術フォーラム（招待講演） |
| 4. 発表年 2019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 | 吉田 陽子 (Yoshida Yohko) (00586232) | 新潟大学・医歯学総合研究科・特任助教 (13101) | |

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 |
|---------|---------|