

機関番号：14401
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20590857
 研究課題名（和文） 心不全発症における心臓肥満細胞由来のレニン・ヒスタミンの果たす役割についての解析
 研究課題名（英文） Analysis of rennin/histamine secreted from cardiac mast cells during heart failure
 研究代表者
 岡 亨（OKA TORU）
 大阪大学・大学院医学系研究科・特任講師（常勤）
 研究者番号：10332678

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、心不全の発症・進展過程での、肥満細胞とそれから放出されるレニンやヒスタミンの果たす役割を明らかにし、レニンやヒスタミン、肥満細胞を標的とした新たな心不全治療戦略の基礎を確立することである。我々は横行大動脈縮窄術による圧負荷モデルにおいて、心房での肥満細胞浸潤が亢進し、心房線維化や心房細動の発症に肥満細胞からの PDGF-A を介した機序が重要な役割を果たしていることを明らかにした（Liao et al., JCI, 2010）。また、アンジオテンシン II（Ang II）負荷モデルにおいても、心房への肥満細胞浸潤と活性化が心房リモデリングや心房細動の発症に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：To explore role of cardiac mast cell, which is thought to be a source of cytokines such as rennin and histamine, we have investigated pressure-overload mouse model and angiotensin II-infusion model. In atrium of the pressure-overload heart, we observed increased number of mast cells in the atrium. The left atrium was fibrotic and prone to atrial fibrillation (Af). We also revealed the atrial fibrosis and Af were mediated by PDGF-A secreted from cardiac mast cells (Liao et al., JCI, 2010). In the angiotensin II-infusion model, we also observed atrial fibrosis and Af associated with mast cell infiltration. These results suggest that infiltration and activation of mast cells could induce atrial remodeling and may associate with Af onset.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科

キーワード：循環器・高血圧、心不全、肥満細胞、心房細動

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会を迎えたわが国では、生活習慣の欧米化と相まって心不全患者は年々増加傾向にある。近年の心臓疾患に対する薬

物療法、外科治療、循環補助装置の進歩にもかかわらず、重症心不全の生存率は3年で約30%と依然として予後不良な病態であり、この要因となっているのは心不全の

発症機構にまだ不明な点が多いためであり、心不全の発症機序の解明と有効な治療法の開発は急務と考えられる。肥満細胞は心臓においてもその存在が確認され、心疾患で増加し、レニンやヒスタミンなどのケミカルメディエーターの供給源であることから、心臓病の病態と深く関係があることが示唆される。しかし、心臓における肥満細胞が集簇し脱顆粒する機序や、放出された生理活性物質が心疾患に与える影響についてまだ不明な点が多い。

2. 研究の目的

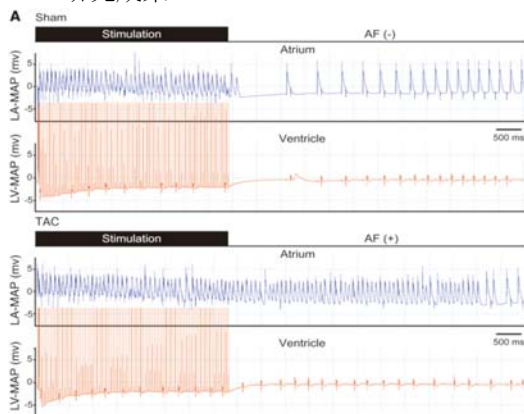
本研究の目的は、心不全の発症・進展過程での、肥満細胞の果たす役割と制御機序を明らかにし、レニンやヒスタミン、肥満細胞を標的とした新たな心不全治療戦略の基礎を確立することである。

3. 研究の方法

横行大動脈縮窄術による圧負荷によって心肥大・心不全モデルマウスを作成し、病的負荷のかかった心臓における肥満細胞を組織学的、分子生物学的に解析し、また、心電図にて不整脈の出現頻度を解析した。さらに、肥満細胞の欠失したマウス (W/W^v) や骨髄移植を用い、心不全、不整脈における肥満細胞の役割と制御機序について詳細に検討した。

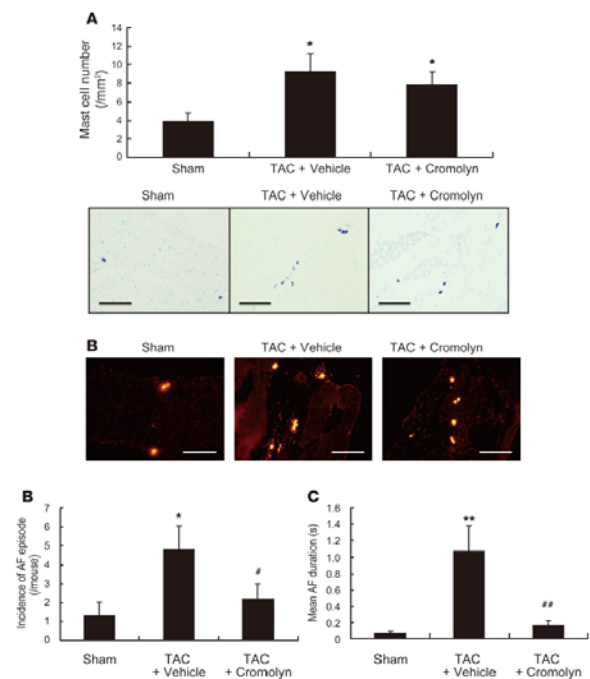
他のモデルとして、アンジオテンシン II (Ang II) 負荷モデルを作成し、肥満細胞、心房組織、不整脈に関する同様の解析も行った。

4. 研究成果

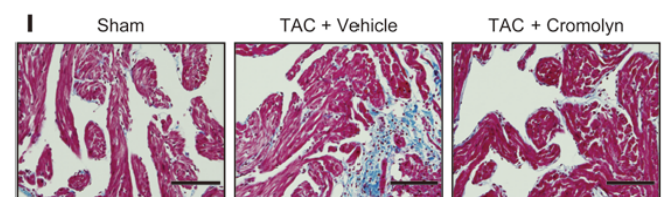


横行大動脈縮窄術による圧負荷心不全モデル (TAC) において、心房細動が誘発されやすいことを見出した (上図 A 下段)。また、圧負荷のかかった心臓では心房細動の頻度や持続時間がともに高かった (左下図 C, D)。この心房を組織学的に詳細に検討してみると、トリイジンブルー陽性の肥満細胞が有意に増加していることが観察され、さらに、avidin 陽性の顆粒が多数観察され、負荷心

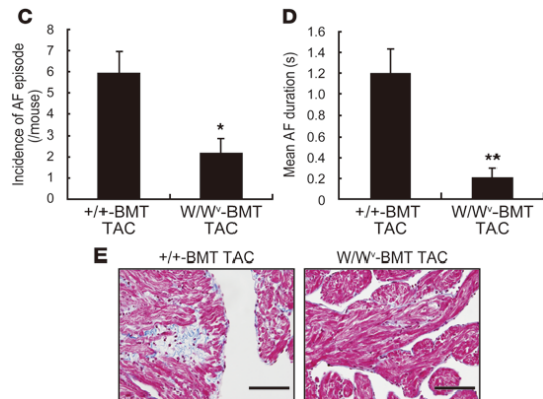
房に肥満細胞が浸潤し、活性化されていることが明らかになった (左上図 A, B)。これらの結果から、病的負荷のかかった心臓における心房細動の原因に肥満細胞の浸潤が関与している可能性が示唆された。さらに、肥満細胞の重要性を確認するために、肥満細胞の膜安定化剤クロモリンを投与したところ、TAC 心房での脱顆粒が抑制され、心房細動の出現が有意に抑制された (下図 B, C)。



心房細動は心房のリモデリングによって引き起こされると言われている。TAC の心房を組織学的に観察すると、著明な線維化が認められ、hydroxyproline 解析でもコラーゲンの蓄積が検出された。しかし、クロモリンを投与した TAC マウスの心房では、線維化やコラーゲンの蓄積が著明に抑制されており、肥満細胞の安定化が TAC 圧負荷による心房リモデリングを抑制し、心房細動の出現を抑制したと示唆される (下図 I)。

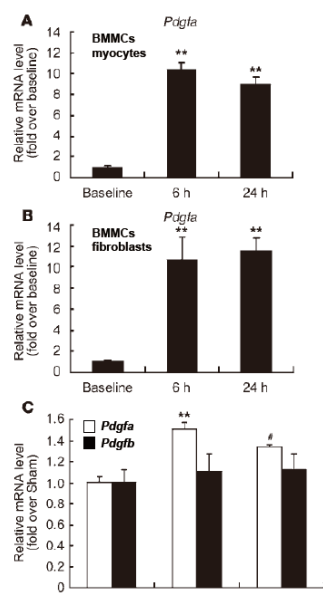


我々は、さらに肥満細胞の負荷心房における心房細動発現に果たす役割を検討するために、肥満細胞の欠失したマウス (W/W^y) を用いた。この W/W^y マウスの骨髄を放射線照射によって骨髄を消失させた野生型マウスに移植し、TAC を行った。この W/W^y の骨髄を移植したマウス (W/W^y -BMT TAC) では、心房への肥満細胞の浸潤はなく、コントロールマウス ($+/+$ -BMT TAC) に比べて心房細動の発現頻度、心房リモデリングは有意に軽度であり (下図 C, D, E)、心房リモデリングや心房細動の出現に肥満細胞の浸潤が重要な役割を果たしていることが示唆された。

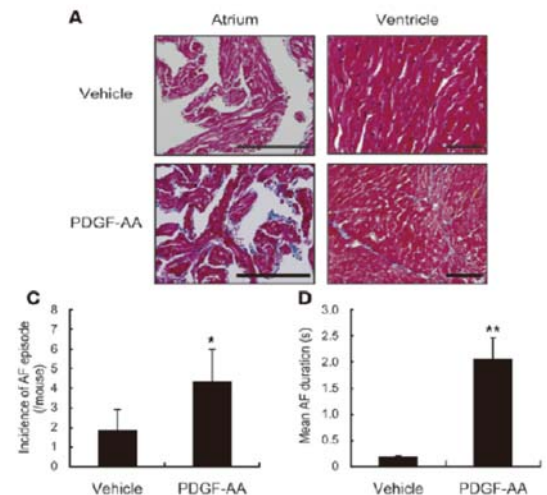


この肥満細胞は様々な生理活性物質を放出しているが、どの因子が心房線維化に重要な役割を果たしているのかを明らかにするために、骨髄由来の肥満細胞を心筋細胞、もしくは、心臓線維芽細胞と共培養し、肥満細胞の線維化関連因子を real time RT-PCR 法を用いて検討したところ、PDGF-A の mRNA が著明上昇していることが分かった (右図 A, B)。また、*in vivo* においても、PDGF-A はコントロールマウス ($+/+$ -BMT TAC) で上昇していたが、 W/W^y -BMT TAC では PDGF-A レベルは抑制されており (右図 C)、心房に浸潤した肥満細胞が活性化され、PDGF-A の発現を亢進している可能性が示唆された。

この PDGF-AA の作用を見るために、BMCs と心臓線維芽細胞との共培養によって得られた培養液を調べたところ、共培養によって PDGF-AA 濃度は 3 倍に達し、その

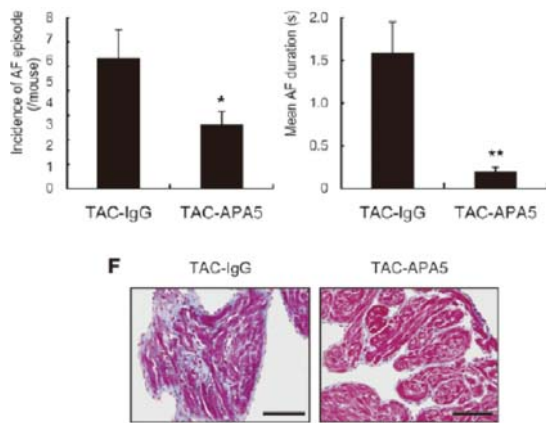


PDGF-AA の誘導はクロモリン添加や PDGFA-a 受容体に対する中和抗体で抑制されたことから、BMC 由来の PDGF-A が線維芽細胞の増殖やコラーゲン産生を誘導している可能性が示唆された (右図 A, B, C)。また、これらの結果は、心房に浸潤した肥満細胞が PDGF-A を介した経路で心房線維化や心房細動を誘導する可能性を示唆するものである。



生体への PDGF-AA 投与によって、心房の線維化や心房細動が容易に誘導されることから、正常な心房においても PDGF-A の発現が上昇することが、線維化や心房細動を誘発する起点になることが示唆される (上図 A, C, D)。一方、TAC マウスに対して PDGF 受容体抗体である PDGFR-a 中和抗体 (APA5) を投与すると、左室肥大や心機能に著変はないものの、摘出後にランゲンドルフ灌流装置を使った電気刺激や経食道的ペーシングによって誘発される心房細動は著明に抑制され、心房の線維化も抑制されていた (TAC-APA5) (次頁図)。これらの結果から、肥満細胞に関連した心房線維化や心房細動の誘発には、PDGF-A を介した機序が関与していることが示唆された (Liao et al., JCI, 2010)。

さらに、アンジオテンシン II (Ang II) 負荷モデルにおいても、心房への肥満細胞浸潤が心房リモデリングや心房細動の発症に関与しているか検討を行った。8 週齢の



野生型マウスに浸透圧ポンプを用いて Ang II (2 mg/kg/day) の持続的皮下投与を行ったところ、投与後 14 日目に、心房の線維化を Masson Trichrome 染色にて認め、心房への肥満細胞浸潤をトルイジンブルー染色にて認めた。心臓を摘出してランゲンドルフ灌流下に心房を電気刺激すると、Ang II 投与群で心房細動が誘発された。一方で、クロモリンを同時に投与して肥満細胞を安定化させておくと、Ang II 負荷した場合でも心房の線維化が軽減し、心房細動の誘発性も有意に低下した。

以上から、心疾患モデルにおいて、心房組織への肥満細胞の浸潤と活性化、それに PDGF-A を介した心房の構造的リモデリングが、心房細動の発症に重要であることが示唆された。

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 3 件)

1. Ikeda H, Shiojima I, Oka T, et al. Increased Akt-mTOR signaling in lung epithelium is associated with respiratory distress syndrome in mice. *Mol Cell Biol*. 2011;31:1054-65.
2. Toko H, Takahashi H, Kayama Y, Oka T, et al. Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II δ causes heart failure by accumulation of p53 in dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 2010;122:891-9.
3. Liao CH, Akazawa H, Tamagawa M, et al. Cardiac mast cells cause atrial fibrillation through PDGF-A-mediated fibrosis in pressure-overload mouse hearts. *J Clin Invest*. 2010;120:242-53.

[学会発表] (計 1 件)

1. Oka T, Harafuji T, Ueda K, Takano H, Komuro I. Hypertrophied heart suffering diastolic dysfunction exhibits impaired coronary flow and altered expression of angiogenic

factors. World Congress of International Society for Heart Research 2010 Kyoto. 2010. 5.13. Kyoto, Japan.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡 亨 (OKA TORU)

大阪大学・大学院医学系研究科・特任講師
(常勤)

研究者番号：10332678

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

小室 一成 (KOMURO ISSEI)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：30260483

塩島 一郎 (SHIOJIMA ICHIRO)

大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座
准教授

研究者番号：90376377

永井 敏雄 (NAGAI TOSHIO)

千葉大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：00334194

赤澤 宏 (AKAZAWA HIROSHI)

大阪大学・大学院医学系研究科・特任講師
(常勤)

研究者番号：20396683