

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790727

研究課題名（和文）

マウス心臓移植モデルを用いた内因性心臓交感神経刺激細胞の役割と病態生理の解析

研究課題名（英文） Analysis of roles and physiological functions of Intrinsic Cardiac Adrenergic Cell in rodent cardiac transplantation model.

研究代表者

田村 雄一（TAMURA YUICHI）

慶應義塾大学・医学部・特任助教

研究者番号：00468498

研究成果の概要（和文）：本研究では内因性心臓交感神経刺激細胞が神経堤由来であることを、P0-Cre x Floxed-GFP のダブルトランスジェニックマウスを用いて明らかにした。また in vivo での検討において内因性心臓交感神経刺激細胞への増殖・分化を促進する因子を同定した。さらに移植マウスにおいて収縮力および心拍数増加が内因性心臓交感神経刺激細胞の発達と相関することを確認した。

研究成果の概要（英文）：We identified the Intrinsic Cardiac Adrenergic Cell (ICA cell) are derived from neural crest by analyzing P0-Cre x Floxed-GFP transgenic mice. We found a driving factor for promoting the proliferation and differentiation into ICA cell. And we confirmed the contraction and heart rate of transplanted hearts were affected with the development of ICA cell.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：分子心臓病態学

1. 研究開始当初の背景

従来移植された心臓においては交感神経支配が途絶し、交感神経による修飾を受けることはないと考えられてきた。しかし実際の

臨床においては、運動やカテコールアミン投与による刺激によって心拍数や心拍出量が変化することが知られており、除神経された交感神経を補完する役割を担う機構がある

ことが予想されていた。また Frank M. NEJM 345(10) 731-738 らの報告によれば、心臓移植後の患者において PET を用いて組織中のカテコールアミンの取り込みを評価したところ、取り込みが多い群が優位に運動耐容能が優れているということが示されている。しかしその詳細なメカニズムに関しては明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

心臓は通常交感神経幹より由来する交感神経の支配を受けて脈拍の調節などを行っているが、心臓移植後の心臓や心筋梗塞などによって神経が一旦切断(除神経)された後の神経支配の再編に関してはその詳細なメカニズムは明らかにされていない。そこで本研究では従来は胎生期の心臓発生段階において交感神経刺激を司り心臓発生に必須であるとされてきた内因性心臓交感神経刺激細胞(Intrinsic Cardiac Adrenergic Cell: ICA cell)が出生後も心臓内に残存していることに着目した。すなわち心移植などにより除神経され中枢由来の交感神経支配が途絶えた心臓において、内因性心臓交感神経刺激細胞が補完的に交感神経作用を担う役割を果たすことを明らかにする。また同時にこれまで内因性心臓交感神経刺激細胞の起源は明らかとなっていなかったが、本研究において神経堤由来であることをトランスジェニックマウスを用い世界で初めて明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では心臓移植モデルマウスを用いて、内因性心臓交感神経刺激細胞が増殖・分化して交感神経作用を補完することを解明する。具体的な手法としては P0-Cre x Flowed-GFP トランスジェニックマウスを用

いて内因性心臓交感神経刺激細胞の系譜解析および移植心での動態を免疫染色や PCR による発現解析によって行うと共に、MIBG シンチグラフィやランゲンドルフ還流モデルを用いることで内因性心臓交感神経刺激細胞が生理学的にも有効な作用を持つことを *in vivo* でも示していく。さらに *in vitro* で解明された内因性心臓交感神経刺激細胞の増殖・分化に関わる因子をトランスジェニックマウスを用いて *in vivo* でも確認する。

・マウス移植心臓モデルを用いた解析

本研究では心臓移植モデルマウスを作製し、移植後 1 ~ 4 週の時点での移植心における交感神経活性を観察する。すでに前述の通り移植心では除神経後に内因性心臓交感神経刺激細胞が増加していることを組織学的に明らかにしたので、本研究においては移植心内で増加している細胞が生理的な交感神経活性を保持していることをより詳細に検討するため、具体的に以下の研究内容を行った

- 1) 移植心臓内におけるカテコールアミンの生合成を生化学的(クロマトグラフィ法を用いる)および RNA 発現レベルで解析した
- 2) MIBG ラジオアイソトープ検査を行い移植心臓内でノルエピネフリンの代謝が行われていることを確認した。

4. 研究成果

(1) 内因性心臓交感神経刺激細胞の起源の解析

従来の研究では内因性心臓交感神経刺激細胞が発生初期の心臓の拍動に必須であることは明らかにされているものの、いずれの部位を起源とするかは明らかとはなっていなかったが、本研究では内因性心臓交感神経刺激細胞が神経堤由来であることを、P0-Cre

x Floxed GFPのダブルトランスジェニックマウスを用いて明らかにした。またトランスジェニックマウスの心臓の細胞をフローサイトメトリーで解析することにより内因性心臓交感神経刺激細胞への増殖・分化の割合を解析することができた。

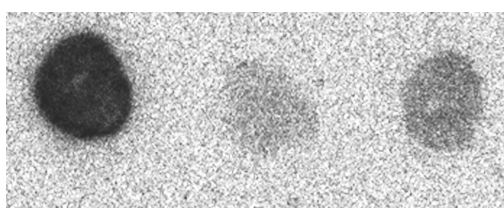
(2)内因性心臓交感神経刺激細胞の増殖・分化誘導因子の解析

本研究で内因性心臓交感神経刺激細胞の増殖・分化を促進する因子に関する検討も行い、因子Xがin vivoでの検討において増殖・分化を促進する因子であることを同定した。

(3)内因性心臓交感神経刺激細胞の機能解析

本研究では移植心において内因性心臓交感神経刺激細胞が生理的に意義のある作用を持っているかどうかを検討するため、移植マウスにおいてMIBGシンチグラフィに加えてランゲンドルフ還流モデル下でカテコールアミン分泌誘導物質による負荷を行い、収縮力および心拍数が増加が内因性心臓交感神経刺激細胞の発達と相関することを確認した。

図1移植心における交感神経作用の再活性化



control 1W 2W
(MIBGによる検討)

研究成果のまとめと展望

本研究の結果、以下の2つのことが示された。

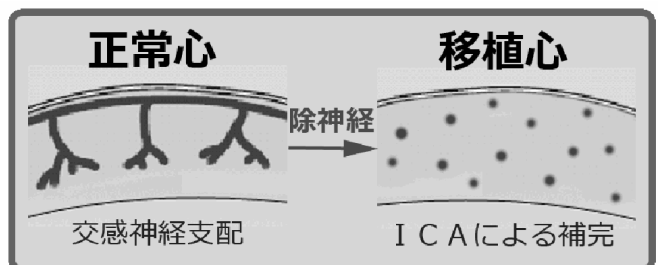
1. 移植心などの交感神経ネットワーク障害時に交感神経作用を補完する役割を果たしているのは内因性心臓交感神経刺激細胞で

ある

2. 内因性心臓交感神経刺激細胞は神経堤由来である

1に関しては下図2に示すとおり、交感神経が障害されるといふ心臓にとっての危機的状況が起こった際には、出生後も一種の”赤ちゃん帰り”機構として内因性心臓交感神経刺激細胞が再活性化し、失われた交感神経系の作用を代替/補完することが示されたのである。

図2 移植心でのICAの補完作用(概念図)



いずれもこれまでの知見では解明されておらず、この2つの事柄を明らかにしたこと世界初の試みである。心臓移植は非代償性の心筋障害の患者にとって唯一の治療法である一方、非常にコストのかかる治療法でもある。そこで移植された心臓が有効に作用し、移植患者の運動耐容能やQuality of Lifeならびに予後を改善する手法をみつけることができれば、その臨床的側面への効果は計り知れない。本研究は除神経された移植後の心臓における交感神経作用を内因性心臓交感神経刺激細胞が担うという補完システムを明らかにしたことで、将来的には心臓移植患者の予後を改善する治療法に応用できると考えられる。さらに除神経の病態は心臓移植のみならず心筋梗塞患者においても認められるため、心筋梗塞に関しても研究を拡張していくことで、梗塞後の心機能障害に関しても新たな治療法につながることを期待され、

さらに発展した画期的な研究となることを期待できる。

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1件)

Tamura Y, Matsumura K, Sano M, Tabata H, Kimura K, Ieda M, Arai T, Ohno Y, Kanazawa H, Yuasa S, Kaneda R, Makino S, Nakajima K, Okano H, Fukuda K. Neural crest-derived stem cells migrate and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 Mar;31(3):582-9. (査読あり)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

田村 雄一 (TAMURA YUICHI)

慶應義塾大学・医学部・特任助教

研究者番号：00468498