

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461101

研究課題名(和文) 心臓リモデリングとエネルギー基質変換における細胞型特異的TGFβシグナルの役割

研究課題名(英文) Cell Type-specific Role of TGFβ Signaling in Cardiac Remodeling and Myocardial Energy Metabolism

研究代表者

小板橋 紀通 (Koitabashi, Norimichi)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10420093

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：心臓への血行動態的な負荷は、心筋細胞の肥大、線維化を引き起こし非代償性の心不全に繋がる。心不全への進行に伴って心筋エネルギー基質が変換することは古くから知られているが、その分子メカニズムは不明である。本研究は心臓においてTGF-βやBMP7によって惹起される経路は、ATP枯渇や低酸素に伴う反応を修飾し、糖代謝依存へ移行させるとの仮説を検証することを目的とした。線維芽細胞特異的なTGFβ受容体欠損マウスでは、圧負荷に伴い心臓線維化が抑えられる一方、心機能低下は抑制できず、エネルギー代謝には変化がなかった。内皮特異的欠損マウスでは明確な表現型をみとめなかった。

研究成果の概要(英文)：Hemodynamic stress induces cardiomyocyte hypertrophy and myocardial fibrosis, resulting pathological cardiac remodeling and heart failure. Myocardial energetics has been shown to be altered in the development of heart failure. However, its precise mechanism remains unclear. We hypothesized that TGF-β or BMP7 induced signaling would induce modifications in myocardial energetic abnormality associating with ATP depletion and hypoxic response. We created fibroblast-specific TGFβ-receptor deletion model and examined stress-responses in heart. Myocardial fibrosis was inhibited in this model but no significant changes in cardiac function and myocardial energetics. On the other hand, endothelial-specific TGFβ receptor deletion model showed no obvious phenotypic difference with control.

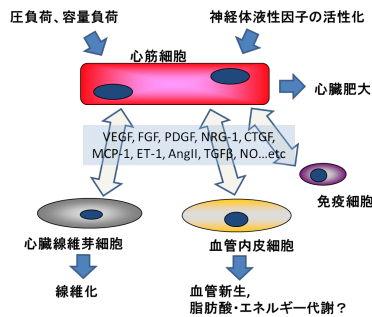
研究分野：心不全

キーワード：心臓リモデリング サイトカイン エネルギー代謝

1. 研究開始当初の背景

心筋梗塞、弁膜症、高血圧といった病的なストレスは、左心室に力学的な負荷および神経体液性因子の活性化を引き起こし、進行性の心臓肥大および心拡大を起こし、最終的に心不全となり死に至る (Koitabashi N, *Nat Rev Cardiol* 2011)。病的な心臓リモデリングとよばれるこの病態では、細胞レベルでは、心筋細胞の肥大、収縮タンパクの形質変換や機能不全が起こっている。また心筋細胞以外にも、心臓線維芽細胞の増殖とそれに伴うコラーゲン線維の産生、血管細胞による血管新生が起こっていることが知られている。心臓を構成するこれら様々な細胞は、TGFβのようなサイトカインなど種々の液性因子によって、相互にその機能を調節しあっていることが示唆されてきた (Figure 1) (Tirziu D, *Circulation* 2010)。

Figure 1 病的な心臓における細胞間ネットワーク



肥大心筋における不十分な血管新生と、それに伴う相対的な虚血状態は、肥大から心不全への移行へのプロセスとして近年注目されている (Shiojima I, *J Clin Invest* 2007)。古くから心臓では虚血は心収縮能を低下させる病的状態として研究されてきており、虚血心筋でエネルギー基質が、脂肪酸代謝から糖代謝にシフトすることはよく知られている。しかしながら、肥大心でこのエネルギー基質のシフトが起きているか、起きているとすればその分子メカニズムは何かについては、多くの部分が不明なままである。

申請者は、米国 Johns Hopkins 大学で、心筋細胞特異的な TGFβ受容体の欠損マウスを作成し (TGFβR2KO)、圧負荷心不全モデル (TAC) を用いて実験した (Koitabashi N, *J Clin Invest*. 2011)。このマウスでは TAC に伴う心臓リモデリングがほぼ完全に抑制された。病理学的には肥大および線維化の抑制に加え、圧負荷に伴う血管密度の低下を強力に抑制していた。この TGFβRKO マウスでは、TAC をした際、Bone Morphogenic Protein (BMP) 7 の心臓での発現が特異的に増加しており、このモデルでの心保護作用は BMP7 を介することが示唆された (Koitabashi N, *J Clin Invest*. 2011)。BMP7 は TGFβスーパーファミリーのひとつで、TGFβの線維化作用を抑制し、血管新生を促進することが報告されるとともに、脂肪組織でのエネルギー消費に重要な役割を持つことが報告されていることから

(Tseng YH, *Nature* 2008)、心臓でのエネルギー代謝にも関係している可能性がある。

一方、申請者は共同研究者とともに、血管内皮特異的な低酸素誘導因子 (Hypoxia Inducible Factor: HIF1α) の欠損マウスにおける圧負荷心臓リモデリングの実験を行い、血管内皮における TGFβシグナリングも、心機能障害増悪因子となりうることを明らかにした (Wei H, Koitabashi N, *PNAS*. 2012)。HIF1αは低酸素に反応してグルコースの取り込みや細胞内糖代謝に重要な遺伝子を調節している (Semenza GL, *Cell*. 2012)。興味深いことに最近、血管内皮細胞が、血管内皮成長因子 (VEGF)-B を介して心臓への脂肪酸の取り込みを調節しうることを示された (Hagberg CE, *Nature* 2010)。この結果をふまえて、肥大心では心筋の糖代謝と脂肪酸代謝かのスイッチが、内皮細胞で調節されている可能性があり、そこに TGFβシグナリングが関与しているのではと考えた。

2. 研究の目的

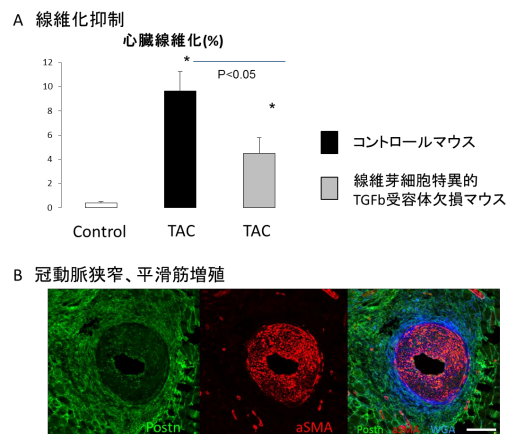
上記の知見から TGFβや BMP7 によって惹起される細胞内シグナルが、低酸素による HIF1αの発現誘導およびその作用を修飾し、ストレス下の心臓を糖代謝依存へと移行させるとの仮説をたてた。

3. 研究の方法

本研究では内皮特異的な TGFβ受容体欠損マウスおよび線維芽細胞特異的な TGFβ受容体欠損マウスを用いた。血管内皮細胞特異的な TGFβ受容体欠損マウスは、心臓の発生異常で胎生致死となるため、薬物 (タモキシフェン) 誘導性の内皮細胞特異的な Cre マウス (Tie2-Cre/ERT2) (Forde A, *Genesis*, 2002) を TGFβ受容体の loxP マウスと掛け合わせ、内皮細胞だけで TGFβシグナルを薬剤誘導性に抑制可能なモデルを作成した。このマウスに病的なストレスをかけ、薬物の投与で TGFβシグナルを遮断し、心臓の変化、特に肥大と血管新生の関係を組織学的に検討するとともに、BMIPP、FDG の取り込みを測定し、心筋エネルギー代謝の関係を検討した。

4. 研究成果

Figure 2



線維芽細胞特異的な TGF β 受容体欠損マウスでは、圧負荷に伴い心臓線維化が抑えられる一方 (Figure 2A) 心機能低下は抑制できず、エネルギー代謝には変化がなかった。心筋細胞特異的な TGF β 受容体阻害で認められた著明な心肥大抑制作用、心保護作用は認められず、エネルギー代謝の改善も認められなかった。意外なことに冠動脈の狭窄および血管平滑筋の異常増殖をみとめたが、この病変の有無の心臓リモデリングに対する影響は明らかでなかった。(Figure 2B)

内皮特異的欠損マウスでは明確な表現型をみとめなかった。

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7件)

1. Sirt7 contributes to myocardial tissue repair by maintaining transforming growth factor- β signaling pathway. Araki S, Koitaishi N, Kurabayashi M, Ogawa H. (他 12 名、11 番目、12 番目) *Circulation* 査読有 132: 1081-93, 2015
2. CD36 is indispensable for thermogenesis under conditions of fasting and cold stress. Putri M, Koitaishi N, Kurabayashi M. (他 12 名、7 番目、15 番目) *Biochem Biophys Res Commun.* 査読有 457:520-5, 2015
3. Cardiac Energetics Re-evaluated by *in vivo* visualization of ATP levels. Koitaishi N, Yamamoto M, Kurabayashi M (他 4 名、1 番目、2 番目、7 番目) *J Card Fail* (abstract), 査読有 21: S174, 2015
4. Fatty acid binding protein 4 and 5 play a crucial role in thermogenesis under the conditions of fasting and cold stress. Syamsunarno MR, Koitaishi N, Kurabayashi M. (他 12 名、11 番目、12 番目) *PLoS One*. 査読有 9:e90825, 2014
5. Cardiomyocyte-specific transforming growth factor β suppression blocks neutrophil infiltration augments multiple cytoprotective cascades, and reduces early mortality after myocardial infarction. Rainer PP, Koitaishi N, Kass DA (他 4 名、5 番目) *Circ Res*. 査読有 114: 1246-57, 2014
6. Dynamic gene expression patterns in animal models of early and late heart failure reveal biphasic-bidirectional transcriptional activation of signaling

pathways. Rowell J, Koitaishi N, Kass DA, Barth AS. *Physiol Genomics* 査読有 46: 779-87, 2014

7. A critical role of fatty acid binding protein 4 and 5 (FABP4/5) in the systemic response to fasting. Syamsunarno MR, Koitaishi N, Kurabayashi M. (他 19 名、6 番目、22 番目) *PLoS One*. 査読有 8:e79386, 2013

[学会発表](計7件)

1. Koitaishi N, Seki M, Simon Conway, Furukawa N, Sunaga H, Yokoyama T, Kurabayashi M
Inhibition of TGF β signaling in perivascular periostin expressing cells attenuates the development of pulmonary arterial hypertension in mice
CVMW2015 心血管代謝週間 (第 23 回日本血管生物医学学会学術集会、第 19 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、第 32 回国際心臓研究学会日本部会 (ISHR)、第 37 回心筋生検研究会) 2015.12.10-12 (神戸)
2. Koitaishi N, Yamamoto M, Musashi T, Samejima M, Iso T, Imamura H, Kurabayashi M.
生体内 ATP 可視化モデルで心臓エナジェティクスを再評価する
第 19 回日本心不全学会学術集会 2015.10.22-24 (大阪)
3. Koitaishi N, Yogi U, Obokata M, Mas R.A.A. Syamsunarno, Yamaguchi A, Kurabayashi M.
Vildagliptin Attenuates Cardiac Hypertrophy and Improves Ventricular Efficiency in Pressure-overloaded Mouse Heart
第 79 回日本循環器学会学術集会 2015.4.24-26 (大阪)
4. Koitaishi N, Yamamoto M, Musashi T, Imamura H, Kurabayashi M.
In Vivo Visualization of ATP Levels Reveals a New World of Cardiac Physiology
第 79 回日本循環器学会学術集会 2015.4.24-26 (大阪)
5. 小坂橋紀通、小保方 優、関 満、倉林正彦
線維芽細胞特異的 TGF β 受容体阻害は圧負荷心の冠動脈で平滑筋増殖を引き起こす
第 18 回日本心不全学会学術集会 2014.10.10-12 (仙台)
6. Koitaishi N, Obokata M, Seki M,

Kass DA, Kurabayashi M
Fibroblast-TGFbeta receptor
inhibition promotes coronary smooth
muscle proliferation in
pressure-overloaded mouse heart
**The 18th International Vascular Biology
Meeting (IVBM2014)2014.4.14-17 (京都)**

7. Koitabashi N,Obokata M,David
Kass,Kurabayashi M
The Role of Cell Type-specific TGF
Signaling in the Maladaptive Responses
of Stressed Heart
**第78回日本循環医学会学術集会
2014.3.21-23 (東京)**

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://gunma-u-med2.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

小板橋 紀通 (KOITABASHI, Norimichi)
群馬大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：10420093

(2)研究分担者

倉林 正彦 (KURABAYASHI, Masahiko)
群馬大学・医学部附属病院・教授
研究者番号：00215047

(3)連携研究者

()

研究者番号：