

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860548

研究課題名(和文) 老化シグナルによる心不全制御機構の解明

研究課題名(英文) The role of p53 signaling in the progression of heart failure

研究代表者

吉田 陽子 (Yoshida, Yohko)

新潟大学・医歯(薬)学総合研究科・特任助教

研究者番号：00586232

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：不全心における炎症と細胞老化の関連は明らかではなかったが、今回我々は心-血管-骨髄間の老化シグナルにより心筋組織で炎症が惹起されることを明らかにした。心不全モデルマウスでは心筋組織内の血管内皮細胞や骨髄細胞においてp53シグナルが上昇し、さらにp53依存的にICAM-1やインテグリンといった細胞接着因子の発現が増加していた。また交感神経刺激により血管内皮細胞やマクロファージのp53シグナルが上昇し、交感神経シグナルの抑制により心臓の炎症や心機能が有意に改善した。本研究により、圧負荷時には交感神経シグナル-p53-ICAM-1/インテグリン経路により心臓炎症が惹起されることがわかった。

研究成果の概要(英文)：The p53 signaling pathway has been implicated in heart failure, but the pathological link between p53 and inflammation in the failing heart is largely unknown. In the present study, we found that expression of p53 was increased in cardiac endothelial cells and bone marrow cells in response to pressure overload, leading to up-regulation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM1) expression by endothelial cells and integrin expression by bone marrow cells. Norepinephrine markedly increased p53 expression in endothelial cells and macrophages. Reducing  $\alpha$ 2-adrenergic receptor expression in endothelial cells or bone marrow cells attenuated cardiac inflammation and improved systolic dysfunction during pressure overload. These results suggest that activation of the sympathetic nervous system promotes cardiac inflammation by up-regulating ICAM1 and integrin expression via p53 signaling to exacerbate cardiac dysfunction.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心不全 老化 炎症

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 老化は、加齢に伴って細胞や組織に様々な有害な変化が生じて生物学的な機能が低下し、ストレスに対する抵抗力が低下したり疾患のリスクが上昇することに特徴づけられる現象である。老化に伴い糖尿病やメタボリック症候群、心不全といった疾患が増加することが知られているが、その制御メカニズムは未だ多くの謎に包まれている。

(2) 老化に伴い増加する代表的な疾患の一つに心不全がある。圧負荷時には心肥大が進行し、やがて代償期から心不全非代償期へ移行して心機能が低下するが、その機序として心不全時に老化分子である p53 が活性化し、それにより心筋組織内の血管新生の抑制されることが重要であることを以前我々は報告した (Nature 2007)。また、最近我々は心不全時に内臓脂肪組織において p53 依存的な炎症が生じることで全身のインスリン抵抗性が獲得されることを明らかにした (Cell Metab 2012)。このように p53 などの老化シグナルが活性化して様々な臓器で老化が進行することが、心不全をはじめとする加齢関連疾患の発症・進展において重要な働きをしていることが示唆されるが、心不全時に心臓老化が進行していく機序は未だ明らかではなかった。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究では、不全心において心臓老化が進行し、心不全を発症進展させるという仮説を検証し、その機序を明らかにする。

(2) 心不全時に心臓老化が進行する分子機序を明らかにする。具体的には心不全時に生じる心臓の血管内皮や免疫細胞における p53 の活性化が心臓への炎症細胞浸潤を誘導し、心臓老化を引き起こすという仮説を検証する。

(3) 心不全における心臓老化の役割を明らかにするとともに、老化シグナルにより心不全が制御される機序を解明することで、新たな心不全治療を創出する。

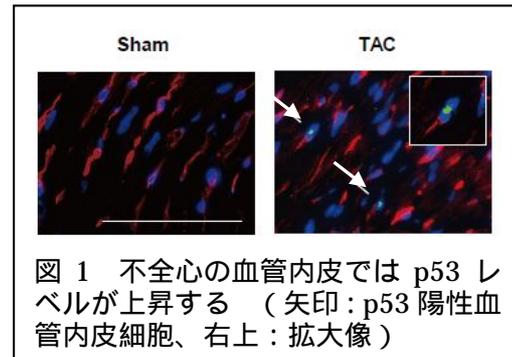
### 3. 研究の方法

(1) これまでの心不全モデルマウスを用いた予備実験の結果から、心不全時に心臓の血管内皮や免疫細胞の p53 シグナルが活性化することが心不全の発症・進展に深く関わっている可能性が示唆されている。よって、本研究では、野生型マウスや、血管内皮特異的 p53 欠損マウスや骨髄での p53 欠損マウスに圧負荷をかけることで心不全モデルを作成し、心不全時に血管内皮および骨髄で活性化する老化シグナルの病態生理学的意義を検証する。

(2) p53 の下流に存在し圧負荷時の心臓の炎症を制御している分子を特定し、老化シグナルにより心臓の炎症が制御される機序を明らかにする。

### 4. 研究成果

(1) 野生型マウスに大動脈縮窄術 (TAC 術) を行い圧負荷をかけたところ、心筋組織ではマクロファージを主体とする炎症細胞浸潤や心機能低下が惹起されるとともに、p53 タンパクの発現が亢進していた。その際の心筋組織を免疫染色やフローサイトメトリーを用いて詳細に解析したところ、圧負荷時には心筋組織内の血管内皮細胞において p53 が増加していることがわかった (図 1)。また、免疫細胞についても検証したところ、心不全時の骨髄においても p53 の発現が増加していることがわかった。

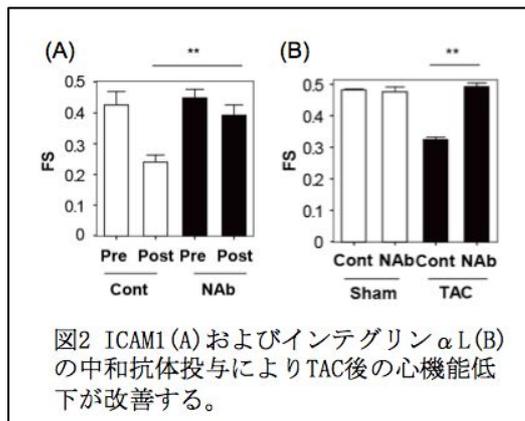


(2) 心不全時の血管内皮細胞における p53 の役割について検討するために、血管内皮特異的 p53 欠損マウスにおいて圧負荷モデルを作製したところ、血管内皮細胞での p53 欠損により、圧負荷時の心臓組織の炎症や心機能低下が改善することが明らかとなり、血管内皮の p53 シグナルが心臓の炎症において重要な役割を果たしていると考えられた。

(3) 心不全時の免疫細胞における p53 の役割について検討するために、骨髄において p53 が欠損しているマウスを作製し、これに TAC 術を行ったところ、骨髄での p53 欠損により圧負荷時の心臓炎症や心機能低下が改善した。反対に、骨髄において p53 が過剰発現しているマウスにおいて TAC 術を行うと、p53 の過剰発現により、さらに心臓の炎症や心機能が悪化したことから、免疫細胞の p53 シグナルも心不全の発症に重要な役割を果たしていると考えられた。

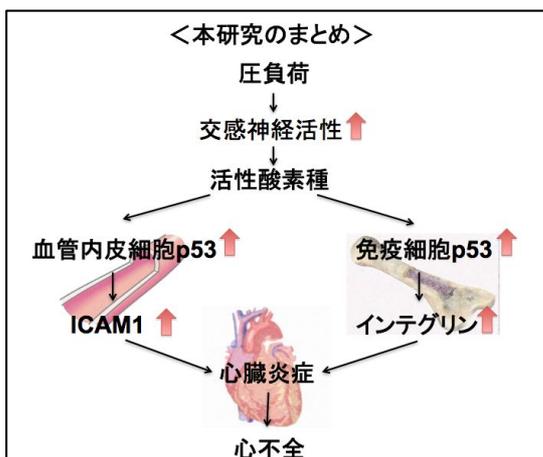
(4) 血管内皮の炎症において、intercellular adhesion molecule-1 (ICAM1) - インテグリンシグナルが重要な役割を果たしていることが知られている。そこで我々の心不全モデルマウスにおいて検証してみたところ、圧負荷時の心臓で ICAM1 が増加し、一方で骨髄組織では ICAM1 のリガンドであるインテグリン L 2 が増加していることがわかった。また、培養血管内皮細胞や培養マクロファージ細胞において p53 を過剰発現すると、血管内皮細胞では ICAM1 が、マクロファージ細胞ではインテグリン L 2 が増加したことから、ICAM1-インテグリンシグナルは p53 によ

り制御を受けていることがわかった。そこで、圧負荷モデルに ICAM1 や Integrin L の中和抗体を投与したところ、圧負荷時の心臓炎症や心機能が改善し、p53-ICAM1/インテグリンシグナルが心臓の炎症において重要な役割を果たしていることがわかった。(図2)



(5) 心不全においては様々なシグナルにより交感神経活性が上昇していることが知られている。そこで、培養血管内皮細胞や培養マクロファージ細胞をノルエピネフリンで刺激したところ、活性酸素種の増加を介して p53 の発現が増加することがわかった。さらに、血管内皮や骨髄においてアドレナリン受容体の発現を抑制したマウスに TAC 術を行うと、これらのマウスでは圧負荷時の心筋組織の炎症や心機能低下が抑制されることがわかった。

以上の結果から、圧負荷時には交感神経シグナル-p53-ICAM-1/インテグリン経路により心臓の炎症が惹起されるという分子基盤が明らかになった。細胞老化を介した炎症メカニズムを制御することで、心不全に対する新たな



な治療法を創出できる可能性があると考えられる。

## 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)

Yohko Yoshida, Ippei Shimizu, Goro Katsuumi, Shuang Jiao, Masayoshi Suda, Yuka Hayashi, Tohru Minamino.  
 Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 85: 183-198, 2015. 査読有  
 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2015.06.001.

〔学会発表〕(計 7 件)

吉田陽子、清水逸平、南野徹.  
 血管内皮-骨髄老化シグナルにより制御される心不全発症メカニズムの解明  
 第 53 回日本臨床分子医学会学術集会, 学術奨励賞(Young Investigators Award) Finalist, 東京国際フォーラム(東京都千代田区), 2016/4/15-16. (口述発表およびポスター発表)

吉田陽子、清水逸平、勝海悟郎、南野徹.  
 血管内皮-骨髄老化シグナルにより制御される心不全発症メカニズムの解明  
 第十回高血圧と冠動脈疾患研究会, 大手町サンケイプラザ(東京都千代田区), 2015/12/19. (口述発表)

Yohko Yoshida, Ippei Shimizu, Tohru Minamino.  
 p53-induced inflammation exacerbates cardiac dysfunction during pressure overload  
 第 32 回国際心臓研究学会日本部会, Young Investigator Award 優秀賞, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市), 2015/12/10-12 (口述発表)

Yohko Yoshida, Ippei Shimizu, Goro Katsuumi, Masayoshi Suda, Yuka Hayashi, Shuang Jiao, Tohru Minamino.  
 p53-Induced Inflammation Exacerbates Cardiac Dysfunction during Pressure Overload  
 第 19 回日本心不全学会学術集会, グランフロント大阪(大阪府大阪市), 2015/10/23-24. (口述発表)

吉田陽子、清水逸平、南野徹.  
 心不全における p53 シグナルを介した血管-骨髄老化の病態生理学的意義の解明  
 第 36 回日本肥満学会 Young Investigators Award Finalist, 名古屋国際会議場(愛知県名古屋), 2015/10/2-3. (口述発表)

Yoshida Y, Shimizu I, Katsuumi G, Suda M, Hayashi Y, Jiao S, Minamino T.  
 p53-induced inflammation exacerbates cardiac dysfunction during pressure overload.  
 ESC Congress 2015, Best Poster Presentation. 2015/8/29-9/2, London, U.K.  
 (口述発表およびポスター発表、Travel Award 受賞)

吉田陽子、清水逸平、勝海悟郎、須田将吉、林由香、池上龍太郎、萱森裕美、焦爽、南

野徹

心不全における血管内皮-骨髄老化シグナルの意義

第 18 回日本心不全学会学術集会, 大阪国際会議場(大阪府大阪市), 2014/10/10-12. (口述発表)

〔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://www.med.niigata-u.ac.jp/car/research\\_agincontrol.html](http://www.med.niigata-u.ac.jp/car/research_agincontrol.html)

<http://www.mol-aging.com>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉田 陽子 (YOSHIDA, Yohko)

新潟大学・医歯学総合研究科・特任助教

研究者番号: 00586232

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号:

### (4) 研究協力者

南野 徹 (MINAMINO, Tohru)