

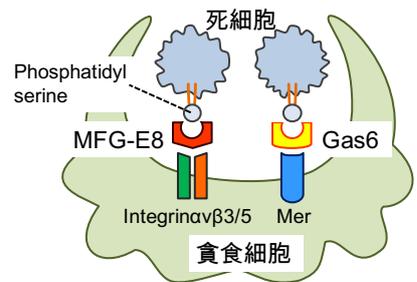
第7回万有医学奨励賞 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（追加助成） <概要>

所 属	九州大学 大学院薬学研究院 薬効安全性学分野
氏 名	仲矢 道雄
研究テーマ	心肥大時における死細胞除去の分子メカニズムの解明

概要の構成は自由ですが、研究助成報告として広報資料に掲載されます点をご留意ください。研究目的、研究手法、研究成果などを1ページにまとめてください。（図表、写真などの貼付を含む）

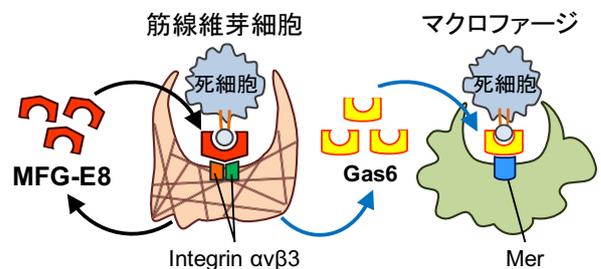
高血圧などによる心肥大時においても過度なストレス等によって、多くの死細胞が心臓に生じることが知られている。しかしながら、心肥大時の死細胞貪食の分子メカニズムは、これまで全くわかっていなかった。そこで我々は、この分子メカニズムの解明に着手した。まず、心肥大時に発現量が上昇する、貪食関連タンパク質を探索し、Gas6(growth-arrest specific gene 6)とMilk fat globule EGF factor-8(MFG-E8)という、2つの貪食関連分子が心肥大時に発現量が上昇することを見出した。

Gas6とMFG-E8は、死細胞表面上のphosphatidylserineおよびマクロファージ表面のMerあるいはintegrin $\alpha\beta3/\beta5$ に結合し、貪食を促進する分泌タンパク質として知られている(図1)。心肥大時のGas6とMFG-E8の産生細胞を調べた所、Gas6とMFG-E8は、マクロファージ等の免疫系の貪食細胞ではなく、組織の線維化を担う、筋線維芽細胞によってのみ産生されていた。また、この筋線維芽細胞特異的なGas6、MFG-E8の発現は、マウスのみならず、心肥大の患者の心臓切片でも認められた。



【図1】 Gas6およびMFG-E8を介した死細胞の貪食

そこで、Gas6とMFG-E8の心肥大時の貪食における役割を解析した所、Gas6は、そのレセプターであるMerを発現するマクロファージによる貪食を、MFG-E8はそのレセプターであるintegrin $\alpha\beta3$ を発現する筋線維芽細胞による貪食を担うことが明らかとなった。実際、肥大したマウス心臓にMerの中和抗体を処置する、あるいはMFG-E8KOマウスに心肥大処置を施すことにより、Gas6/MerあるいはMFG-E8/integrin $\alpha\beta3$ の貪食経路を阻害すると、貪食されずに残存する死細胞が増加し、その結果、炎症が悪化し、それに伴って心機能の悪化が認められた。



【図2】心肥大時の心臓マクロファージは、Gas6を筋線維芽細胞はMFG-E8を介して貪食する

逆に、肥大したマウス心臓にGas6およびMFG-E8を過剰発現させると、残存する死細胞の数は減少し、心臓の線維化および心機能の改善が認められた。

これまで、死細胞の貪食をターゲットにした治療薬は全くない。従って、本研究は死細胞の貪食を標的にした革新的な心肥大制御法の開発に繋がることが期待される。

第7回万有医学奨励賞 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（追加助成） <詳細>

所 属	九州大学 大学院薬学研究院 薬効安全性学分野
氏 名	仲矢 道雄
研究テーマ	心肥大時における死細胞除去の分子メカニズムの解明

研究目的/方法/結果/考察/今後の課題など(3 ページ以内)

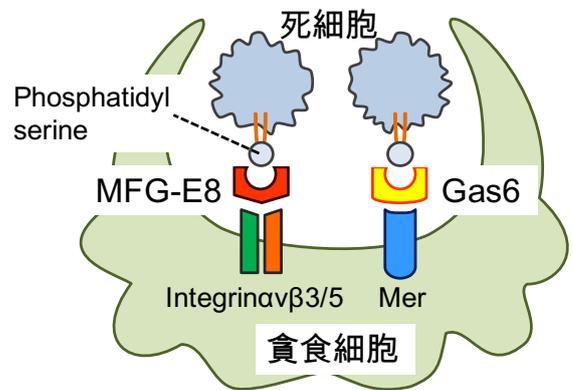
1. 研究の背景・目的

心筋梗塞時には、多くの死細胞が生じ、これら死細胞は、マクロファージなどの貪食細胞によって速やかに処理される。しかしながら、心筋梗塞時の死細胞の貪食メカニズムは、未だよく分かっていなかった。我々は、これまでコラーゲン等の細胞外マトリックス蛋白質を産生し、組織の線維化を実行する機能のみを持つと考えられてきた、筋線維芽細胞が死細胞を貪食することを世界に先駆けて見出した

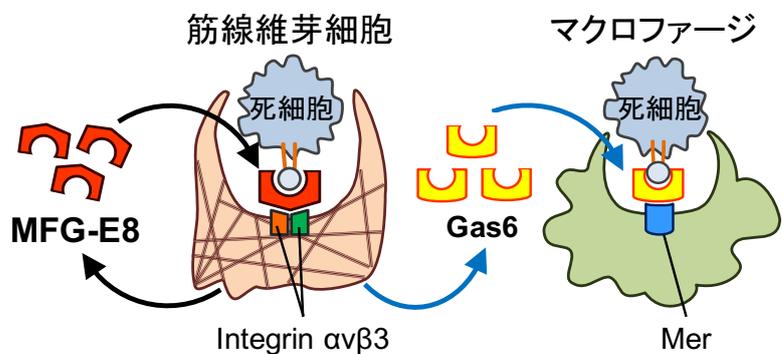
(Nakaya M* et al., JCI, 2017 *:
 Corresponding Author)。

一方で、心肥大時においても過度なストレス等によって、多くの死細胞が生じることが知られている。しかしながら、心肥大時の貪食の分子メカニズムはこれまで全くわかっていなかった。そこで我々は、この分子メカニズムの解明に着手した。まず、心肥大時に発現量が上昇する、貪食関連分子を探索し、Gas6(growth-arrest specific gene 6)と Milk fat globule EGF factor-8 (MFG-E8) という、2つの貪食関連分子が心肥大時に発現が上昇することを見出した。

Gas6 と MFG-E8 は、生体内のいくつかのマクロファージに発現し、死細胞表面上の phosphatidylserine およびマクロファージ表面の Mer あるいは integrin α v β 3/ β 5 に結合し、貪食を促進する分泌タンパク質として知られている(図 1)。心肥大時の Gas6 と MFG-E8 の発現細胞を調べた所、Gas6 と MFG-E8 は、マクロファージ等の免疫系の貪食細胞ではなく、組織の線維化を担う、筋線維芽細胞によってのみ産生されていた。また、この筋線維芽細胞特異的な Gas6、MFG-E8 の発現は、



【図 1】 Gas6 および MFG-E8 を介した死細胞の貪食



【図 2】心肥大時の心臓マクロファージは、Gas6 を、筋線維芽細胞は MFG-E8 を介して貪食する

研究目的/方法/結果/考察/今後の課題など(3 ページ以内)

心肥大患者の心臓切片でも認められた。そこで、Gas6 と MFG-E8 の心肥大時の貪食における役割を解析した所、Gas6 は、そのレセプターである Mer を発現するマクロファージによる貪食を、MFG-E8 はそのレセプターである integrin $\alpha\beta 3$ を発現する筋線維芽細胞による貪食を担うことが明らかとなった。実際、肥大したマウス心臓に Mer の中和抗体を処置する、あるいは MFG-E8KO マウスに心肥大処置を施すことにより、Gas6/Mer あるいは MFG-E8/integrin $\alpha\beta 3$ の貪食経路を阻害すると、貪食されずに残存する死細胞が増加し、その結果、炎症が悪化し、それに伴って線維化、心機能の悪化が認められた。

逆に、肥大したマウス心臓に MFG-E8 を過剰発現させると、残存する死細胞の数は減少し、心臓の線維化、心機能の改善が認められた。しかしながら、Gas6 の過剰発現が心臓の機能へ及ぼす影響については、未だ不明である。そこで本研究では、この点についてさらに研究を行った。

2. 研究方法・研究結果

(1) Gas6 が心肥大治療薬の創薬標的分子となりうるかについての検討。

Gas6 および MFG-E8 は、分泌タンパク質である。そこで、MFG-E8 の時と同じく、Gas6 を過剰発現することにより、死細胞の貪食が促進され、心肥大病態が改善するかについて検討を行った。Gas6 を心臓に特異的に発現させるため、心筋細胞特異的発現を可能にする心筋トロポニン T (cTnT) のプロモーターの下流に Gas6 を発現させたアデノ随伴ウイルスを作成し、マウス新生児に投与した。マウスが 8 週令になり、Gas6 が、それら心臓において十分に分泌されていることを確認した後、心肥大処置を施し、Gas6 投与群においては、心臓での炎症および線維化因子の発現量が減少するか、さらには、心臓の機能の有意な回復が認められるかを検討した。

その結果、Gas6 の過剰発現により、心肥大時の心臓における死細胞数が減少することを見出した。そしてさらに、Gas6 の過剰発現によって死細胞数が減少することにより、心臓の線維化、心機能の改善が認められることも見出した。

3. 考察と今後の課題

心肥大時に死細胞の貪食を担う分子はほとんど同定されていなかった。さらには、心疾患時の死細胞の除去は、長年、マクロファージのみが行うと考えられており、組織の線維化を担う筋線維芽細胞が貪食能を持つという知見もなかった。

本研究により、MFG-E8 だけでなく、心肥大時の筋線維芽細胞から分泌される Gas6 が、死細胞の貪食除去を担うことで、病態時の炎症応答や線維化を抑制し、心保護的に働くことが初めて明らかになった。

未だ、死細胞の貪食をターゲットにした心不全治療薬は全くない。また、現時点では、死細胞の除去を促進することによって副作用が生じることは考えにくい。本研究は、MFG-E8 あるいは Gas6 の投与によって心肥大時の心機能の改善効果が認められることを明らか

研究目的/方法/結果/考察/今後の課題など(3 ページ以内)

にした。従って、肥大心への MFG-E8 あるいは Gas6 の投与が、新規の効果的な心筋梗塞治療法に繋がることが期待される。

第7回万有医学奨励賞 – 生活習慣病領域 –

研究成果報告書（追加助成）＜発表実績/予定一覧＞

所 属	九州大学 大学院薬学研究院 薬効安全性学分野
氏 名	仲矢 道雄

1. 論文発表実績

- ・ 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- ・ 論文 PDF 添付ありとなしに分けてリストを作成のこと。
- ・ 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- ・ 国内外雑誌を問わない。
- ・ 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。
- ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

① <論文 PDF 添付あり>

1	Takanori Hironaka, Tomoyuki Ueno, Kyosuke Mae, Chikashi Yoshimura, Takumi Morinaga, Yuma Horii, Akiomi Nagasaka, Hitoshi Kurose, and <u>Michio Nakaya</u> * Drebrin is induced during myofibroblast differentiation and enhances the production of fibrosis-related genes. <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 529(2):224-230 *: corresponding author (査読あり)
2	Yuma Horii [#] , <u>Michio Nakaya</u> [#] , Hiroki Ohara [#] , Hiroaki Nishihara [#] , Kenji Watari, Akiomi Nagasaka, Takeo Nakaya, Yuki Sugiura, Toshiaki Okuno, Tomoaki Koga, Akira Tanaka, Takehiko Yokomizo and Hitoshi Kurose Leukotriene B ₄ receptor 1 exacerbates inflammation following myocardial infarction. <i>FASEB J.</i> 34(6), 8749-8763. (2020) *: corresponding author [#] : equally contributed (査読あり)
3	Chikashi Yoshimura, Akiomi Nagasaka, Hitoshi Kurose, & <u>Michio Nakaya</u> * Efferocytosis during myocardial infarction. <i>J. Biochem.</i> 168(1), 1-6. (2020) *: corresponding author (査読あり)

② <論文 PDF 添付なし>

1	Takeo Nakaya, Masaya Sogabe, Shin-ichi Yamamoto, Kentaro Tsuji, <u>Michio Nakaya</u> , Toshiro Niki, Shunsuke Endo, and Akira Tanaka Pancreatic carcinoma metastasis to a lung carcinoma lesion and pulmonary fibrotic regions, overtaking the stromal microenvironment <i>Medicine.</i> 98(24):e15888 (2019) (査読あり)
2	Takashi Iezaki, Kazuya Fukasawa, Tetsuhiro Horie, Gyujin Park, Samuel Robinson, <u>Michio Nakaya</u> , Hiroyuki Fujita, Yuki Onishi, Kakeru Ozaki, Takashi Kanayama, Manami Hiraiwa, Yuka Kitaguchi, Katsuyuki Kaneda, Yukio Yoneda, Takashi Takarada, X. Edward Guo, Hitoshi Kurose, and Eiichi Hinoi The MAPK Erk5 is necessary for proper 1 skeletogenesis through a molecular axis that involves Smurfs-Smads-Sox9 <i>Development.</i> 145(14), dev164004 (2018) (査読あり)
3	Taka-aki Koshimizu, Kenji Honda, Sachi Nagaoka-Uozumi, Atsuhiko Ichimura, Ikuo Kimura, <u>Michio Nakaya</u> , Nobuya Sakai, Katsushi Shibata, Kentarou Ushijima, Akio Fujimura, Akira Hirasawa, Hitoshi Kurose, Gozoh Tsujimoto, Akito Tanoue & Yukio Takano Complex formation between the vasopressin 1b receptor, β -arrestin-2, and the μ -opioid receptor underlies morphine tolerance <i>Nat. Neurosci.</i> 21(6), 820-833. (2018) (査読あり)

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 アブストラクト、プログラム等の PDF を添付すること。 国内外を問わない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2020 年 9 月 19 日	第 52 回日本結合組織学会 仲矢道雄、黒瀬等 「筋線維芽細胞のマーカー受容体の探索」
2	2020 年 3 月 27 日	日本薬学会, 第 140 年会 仲矢道雄 「筋線維芽細胞に焦点を当てた線維化治療戦略」
3. 投稿、発表予定（投稿中の論文も含める）		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2021 年 1 月 投稿予定	Shoichi Matsuda, Yuma Horii, Takeo Nakaya, Shiori Komiya, Akiomi Nagasaka, Makoto Tsuda, Akira Tanaka, Shigekazu Nagata, Hitoshi Kurose & Michio Nakaya Cardiac myofibroblasts contribute to removal of dead cells in hypertrophic heart <i>FASEB Journal</i>
2		
3		
4		