

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	勝海 悟郎
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 810 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Catecholamine-induced senescence of endothelial cells and bone marrow cells promotes cardiac dysfunction in mice (慢性的な交感神経シグナルの活性化は骨髄・血管内皮老化を介し心不全を増悪させる)
論文審査委員	主査 教授 寺井 崇二 副査 教授 小松 雅明 副査 教授 南野 徹

### 博士論文の要旨

#### 【背景と目的】

申請者らは以前より細胞レベルの老化、が個体の老化を制御とする細胞老化仮説に基づき、細胞老化が心不全、糖尿病、動脈硬化性疾患などの加齢関連疾患の病態において亢進していること、また細胞老化が同疾患の病態の進展に重要な役割を果たすことを報告してきた。細胞老化は加齢によるテロメア短縮をはじめ DNA ダメージ、過剰な増殖シグナル、栄養過多などのストレスにより惹起される。細胞老化に伴い遺伝子発現パターンの変容を介し、細胞分裂を停止するだけでなく、形態的、機能的に劇的な変化を来す。元来細胞老化は細胞のがん化を抑制する生体防御機構として認知されていたが、申請者らをはじめ多くの研究者により細胞老化が動脈硬化性疾患、心不全、糖尿病生活習慣病などの加齢関連疾患の病態を発症、促進させる役割を担うことが明らかとなってきた。

心不全は様々な治療法が開発されたにもかかわらず未だに年率 10%以上の致死率を有し、大きな Unmet medical needs が存在する。特に既存の概念にない斬新な治療戦略の創出は急務となっており、今なお盛んに研究が進められている。申請者らは最近カテコラミン誘発性心不全マウスモデルを用いた検証で血管内皮ならびに骨髄由来細胞における細胞老化が誘発されることを発見したため、その病態学的意義を解明することを本研究の目的とした。

#### 【方法】

申請者らは 11 週齢の C57B6/NCr 雄マウスに対して、イソプロテレノールを 30mg/kg/day の投与量で 4 ないしは 6 週間にわたり持続皮下投与し、心機能低下を誘発した後、心臓、骨髄を採取し、種々の解析に用いた。また Cre-LoxP システムを用いて血管内皮特異的 p53 ノックアウトマウス (Tie2 cre p53 fl/fl マウス) を、p53 ノックアウトマウスから採取した骨髄細胞を wild type マウスに移植することで骨髄細胞特異的 p53 ノックアウトマウスをそれぞれ作成し、先述の実験に供した。さらには培養血管内皮細胞ならびにマクロファージ細胞株を用いて、カテコラミン刺激による老化シグナルの活性化を検証した。

## 【結果】

まず、申請者らは野生型マウスにおける解析を実施したところ、イソプロテレノールを投与した群において有意な左室拡大、収縮能低下とともに心臓組織におけるマクロファージを中心とした炎症細胞浸潤が有意に増加した。このマウスの心臓における細胞老化の主要マーカーである p53 の蛋白発現レベルを測定したところ、心臓組織中の血管内皮ならびに骨髄由来細胞において p53 の発現が増加することが分かった。さらに、血管内皮における p21、ICAM1 レベル、マクロファージにおける p21、Integrin $\alpha$ L の発現が増加することも明らかとなった。これらの分子は p53 の下流シグナルに位置する分子として知られており、ICAM1 ならびに Integrin $\alpha$ L は相互の分子と接着することが知られている。先述の結果は、血管内皮および骨髄由来細胞における p53 依存性細胞老化が心臓炎症、心機能低下に寄与することを示唆するものであった。さらに、申請者らは心臓炎症、心機能低下に対する p53 の寄与の程度を検証するため、血管内皮細胞特異的に p53 を欠失させた遺伝子改変マウスを作成し、イソプロテレノール投与を施した。その結果、野生型マウスにおいて見られる心機能低下が、血管内皮ならびに骨髄由来細胞における p53 欠失により抑制されることが分かった。

また、培養細胞を用いた検討でも、イソプロテレノール 100nM の添加により p53 ならびにその下流シグナルの活性化が認められた。

## 【考察】

以上の結果から持続的な交感神経シグナルの活性化による心臓炎症ならびに心機能低下の進展において、血管老化ならびに骨髄老化が重要な役割を果たすことが示された。これらの細胞老化は ICAM1 とその結合相手である Integrin $\alpha$ L の発現増加を介した血管内皮-骨髄由来細胞間の細胞接着の増加により、炎症細胞の心臓組織への浸潤を促進することで、心臓炎症を惹起することが示唆された。以前申請者らは圧負荷心不全マウスモデルを用いて p53-ICAM1-Integrin シグナルの抑制により心臓炎症と心不全の改善が得られることも明らかにしており、交感神経シグナルにより制御される血管内皮および骨髄の老化シグナルは心不全の新たな治療標的となる可能性が示唆された。

## 【結論】

慢性的な交感神経シグナルの活性化は血管老化ならびに骨髄老化を誘導し、心臓炎症、心不全の病態を正に制御する。

### 審査結果の要旨

申請者らはカテコラミン誘発性心不全マウスモデルを用いた検証で血管内皮ならびに骨髄由来細胞における細胞老化が誘発されることを発見し、その病態学的意義の解明を試みた。

方法として 11 週齢の雄マウスに対して、イソプロテレノールを持続皮下投与し、心機能低下を誘発した後、心臓、骨髄を採取し、種々の解析に用いた。また血管内皮特異的 p53 ノックアウトマウスを、p53 ノックアウトマウスから採取した骨髄細胞を wild type マウスに移植することで骨髄細胞特異的 p53 ノックアウトマウスを作成し、各種心不全の変化について解析を行った。

その結果、血管内皮および骨髄由来細胞における p53 依存性細胞老化が心臓炎症、心機能低下に

寄与することが示唆され、次に心機能低下に対する p53 の寄与の程度を検証するため、血管内皮細胞特異的に p53 を欠失させた遺伝子改変マウスを作成し、イロプロテレノール投与した。その結果、野生型マウスの心機能低下が、血管内皮ならびに骨髄由来細胞における p53 欠失により抑制されることが明らかになった。以上の結果から、持続的な交感神経シグナルの活性化が血管老化ならびに骨髄老化が重要な役割を果たすことが示された。この結果は、交感神経シグナル活性化が心不全の新たな治療標的となる可能性が示すもので、十二分に学位論文として価値のあるものと評価した。