

老化シグナル制御による生活習慣病治療法の開発 (BDNFの心保護作用の解明)

千葉大学大学院 医学研究院 循環病態医科学
南野 徹

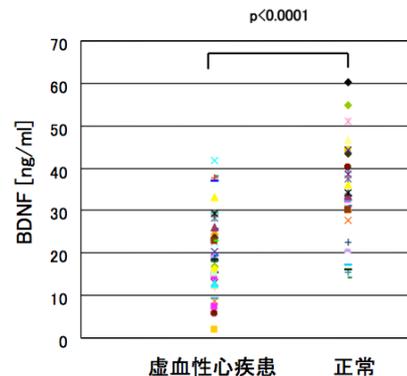
1. はじめに

虚血性心疾患は成人期の死亡原因として上位を占める重要な疾患である。現在までに経皮的血管形成術をはじめとしたカテーテルによる治療法の開発が進み、急性期の救命率は著明に改善した。カテーテルによる治療法では現在のところ長期的な予後を改善することは困難であるが、様々な薬物治療が検討され、そのいくつかの薬剤はわずかに長期予後を改善することが分かってきた。一方、近年虚血性心疾患に対しての再生医療についてめざましい進歩がみられているが、未だ予後を改善するには至っていない。したがって、現在の虚血性心疾患に対する有効な治療法の開発については、まだ不十分といわざるを得ない。

以前より、動脈硬化・虚血性心疾患の危険因子の一つとして、うつ病気質が提唱されている。一方、Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF)は脳内で産生分泌される神経栄養因子であるが、脳内での産生が低下するとうつ病の原因となることが報告されている。また、我々の老化マウスモデルにおいて、BDNF発現の低下が認められていた。さらに、BDNFのノックアウトマウスのホモ接合体は、胎児期に心不全を起こして死亡することも報告されている

(Development 2000)。これらのことから、BDNFが心血管系に対して病態生理学的な役割を果たしていることが示唆される。そこで我々は、BDNFと虚血性心疾患の関係に注目し検討したところ、虚血性心疾患をもつ症例では健常群と比べて血中のBDNF濃度が有意に低いことが分かった(図1)。その低下は、糖尿病や高血圧など既知の危険因子とは独立した因子であることも明らかとなった。BDNFのノックアウトマウスのヘテロ接合体に急性心筋梗塞モデルを作成してみると、野生型マウスと比較して、心筋梗塞後の死亡率の増大傾向と梗塞後のリモデリングの進行がみられた。BDNFの発現は心筋梗塞後低下するが、野生型マウスの心筋梗塞モデルにBDNFを投与することによって梗塞後のリモデリングは抑制された。つまりBDNFの低下は、急性心筋梗塞の原因となる動脈硬化の進展や梗塞後の心不全の原因となるリモデリングの促進に関わっている可能性がある。そこで本研究では、BDNF

図1 虚血性心疾患を持つ患者では血中BDNFレベルの低下がみられた



がどのようにして虚血性心疾患・動脈硬化の病態生理に関わっているか？BDNFはどのようにして梗塞後のリモデリングを抑制するのか？などを調べるためにBDNFやそのレセプターであるTrkBのコンディショナルノックアウトマウスと動脈硬化モデルや急性心筋梗塞モデルなどを用いて検討し、BDNFによる治療・診断の臨床応用を検討することを目的とする。

2. 方法

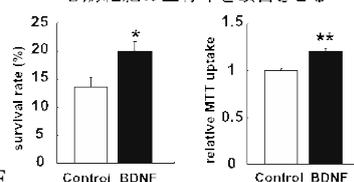
BDNFの心筋梗塞後リモデリングに対する作用の解明

心筋梗塞後のリモデリングに対するBDNFの作用を検討するため、全身でBDNFの欠失をタモキシフェンによって誘導できるコンディショナルノックアウトマウス、心筋細胞特異的にBDNFの欠失を誘導できるコンディショナルノックアウトマウス、神経細胞特異的にBDNFの欠失を誘導できるコンディショナルノックアウトマウス、心筋細胞特異的にBDNFのレセプターであるTrkBの欠失を誘導できるコンディショナルノックアウトマウスを作成した。これらのマウスにおいて心筋梗塞モデルを作成し、心エコーや心カテーテル検査、病理学的検討を行うことによって、どの組織のBDNFが重要であるか？BDNFのターゲットは心筋細胞かどうか？を検証することができる。これらの解析方法はすでに確立している（Nature 2007, Nat Med 2005）。神経組織におけるBDNFの活性化が重要であることも予想されるので、心臓から中枢神経系へシグナルを伝達する遠心路をカプサイシン処理によって遮断し、心筋梗塞後の中枢性のBDNFの活性化が抑制されるかどうか？その際、心筋梗塞後のリモデリングは増悪するかどうか？などについても検証する。また、中枢性のBDNFの活性化がどの核に認められるかについても検討する。培養系の実験では、心筋細胞に対してBDNFがどのようなシグナル経路で保護的な効果を発揮するかについて検討を加える。

3. 結果

我々はまずBDNF及びその受容体であるTrkBが心筋細胞に発現することを確認した。続いて培養心筋細胞にBDNFを過剰発現させ、虚血環境下での細胞生存に対する影響を評価したところ、BDNF群では有意な生存率の改善を認めた（図2）。

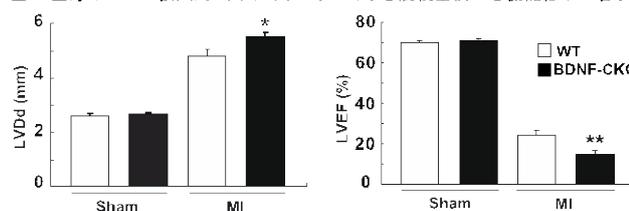
図2. BDNFは虚血環境において心筋細胞の生存率を改善させる



次に我々は遺伝子改変マウスを作製し、心筋梗塞に対するBDNF

の効果の検討を行った。BDNFのノックアウトマウスは生後まもなく死亡するため、我々はCre-loxP systemを用いて後天的にBDNF遺伝子の削除を行った。このBDNF後天的ノックアウトマウスに心筋梗塞を作成したところ、2週間後にはコントロールと比し顕著な梗塞範囲の拡大・心機能の低下を認めた（図3）。一方、予想に反し、心筋細胞特異的なBDNFの後天的ノックアウトマウスでは、心筋梗塞2週間後

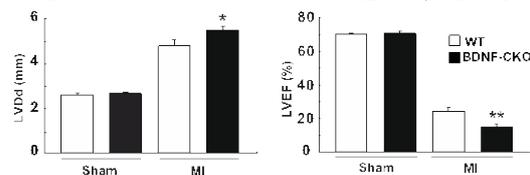
図3. 全身のBDNF後天的ノックアウトマウスでは心筋梗塞後の心機能低下が著しい



においてもコントロールと同程度の梗塞範囲・心機能低下を認めるのみであった。

両者の違いからは、心臓ではなくむしろ他の組織に由来する BDNF が心保護に働く可能性が示唆された。BDNF は脳で最も豊富に発現しており、液性因子として作用することが知られている。そこで我々は脳・血液における BDNF 発現の変化に着目した。心筋梗塞 24 時間後の BL6 マウスでは、脳における BDNF 発現が有意に増加しており、血中 BDNF 濃度も同様であった。一方これらの変化は、BDNF の後天的ノックアウトマウスでは消失していた(図 4)。

図 3 全身の BDNF 後天的ノックアウトマウスでは心筋梗塞後の心機能低下が著しい

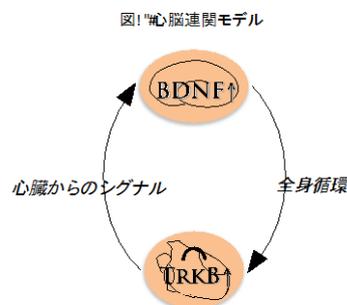


以上の結果より、我々は BDNF を介した心保護効果について新たな仮説を提唱するに至った。即ち、虚血心からの刺激を受けた脳において BDNF の発現が増加し、この増加した BDNF が血流を介し心臓に至り保護作用を発揮するという斬新な心脳連関モデルである(図 5)。

この仮説を証明するため、次に我々は高用量のカプサイシンを BL6 マウスの心嚢内に投与し、心臓に分布する自律神経の求心性一次知覚神経を薬理的に除去した。これにより心臓から脳へ至る上行路遮断モデルの作成に成功した。本マウスの心機能は心筋梗塞 2 週間後の時点で顕著に増悪し、また梗塞範囲も有意に拡大していた。また心筋梗塞後早期の脳・血中における BDNF の増加も認めなかった。このモデルにより得られた結果も、本モデルを支持するものであった。

4. 考察

これまでのデータから我々は、次のようなモデルを提唱する。すなわち、心筋梗塞によって虚血性のシグナルが心臓から脳へと伝達され、その結果、脳内における BDNF の産生が増強される。脳内から血中へ放出された BDNF は、液性因子として心臓に働き、心筋梗塞後のリモデリングを抑制すると考えられる。このような脳-心相互作用により制御される心血管系の病態生理は、交感神経系などいわゆる自律神経系を除いては、全く研究がされておらず、きわめて独創的なものである。



本研究によって BDNF の心血管病態生理に対する役割を解明することによって、BDNF が虚血性心疾患の危険因子の一つとして診断マーカーとなりうるだけでなく、BDNF や BDNF の濃度を増加させる薬物、すなわち選択的セロトニン取り込み阻害薬 (SSRI) が動脈硬化や心筋梗塞に対する治療薬として臨床応用される可能性がある。また、末梢組織のストレスによって中枢性のシグナルが活性化し、末梢の病態生理に関与するという新しいメカニズムをさらに解明することによって、BDNF 以外にも、これまで考えられなかった治療のターゲットを見つけることができるであろう。

5. 発表論文、参考文献

投稿中