

博士論文（要約）

心臓リモデリングにおける VEGF シグナルの役割

加藤 愛巳

博士論文の要約

論文題目 臓器 D のリモデリングにおける ligand X の役割

氏名 加藤 愛巳

Ligand X は細胞 B の増殖を促進する分泌因子として単離され、細胞 B の発生、分化および増殖において中心的な役割を果たすことが知られている。Ligand X は主に受容体型チロシンキナーゼである Ligand X 受容体を介して細胞内にシグナルを伝えている。Ligand X 受容体-2 は主に細胞 B に発現するが、Ligand X 受容体を介するシグナルの生理活性は Ligand X 受容体-1 に比して極めて高いと考えられており、実際に、Ligand X 受容体-2 欠損マウスでは細胞 B の機能が著しく障害され、胎生致死を引き起こす。

近年、腫瘍における細胞 B を標的とする治療アプローチにおいて Ligand X を含む細胞 B の機能阻害薬を用いた治療が広く行われるようになってきた。悪性腫瘍（以下、がん）細胞の増殖には酸素、栄養素の供給が必要不可欠である。そのためのがん細胞は組織の増大に伴って新たな血管を構築し、血液の灌流を維持している。またがん組織の増大は基本的に急速であり、腫瘍組織内は容易に低酸素環境に陥る。低酸素環境は転写因子 O の発現を誘導する。転写因子 O は強力な ligand X 発現誘導因子であることが知られており、腫瘍組織内での ligand X 発現を誘導し、細胞 B の活性化を惹起する。つまり ligand X は腫瘍内の細胞 B の活性化においても、中心的な役割を果たすと考えられている。そこで、腫瘍組織内の未熟な細胞 B の機能を阻害すべく、抗がん剤投与に Ligand X 阻害薬を併用する治療が広く行われるようになった。

代表的な Ligand X 阻害薬である薬剤 Y は、Ligand X に対するモノクローナル抗体である。薬剤 Y は、従来のがん治療に追加することで、転移性大腸癌症例における無増悪生存期間、奏効率、奏功期間のみならず、生存期間をも有意に延長した。現在、薬剤 Y は卵巣癌、悪性神経膠腫、再発・進行した大腸癌、非小細胞肺癌、子宮頸がん、乳癌に対して投与されている。

薬剤 Y 等の Ligand X 阻害薬は大腸癌、婦人科腫瘍の治療において日常的に用いられるようになっている一方、現在それらの臓器 E への副作用が数多く報告されている。薬剤 Y 投与に伴う最も多い合併症は高血圧の発症であるが、併せて尿蛋白、出血傾向、臓器 D の機能低下および動静脈血栓症発症リスクの増大が指摘されている。またメタ解析において、National Cancer Institute Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) Grade 3 以上の心不全発症リスク

が 4.74 倍($P = 0.001$)に増加していることが報告されている。このような Ligand X 阻害薬投与に伴う合併症は抗がん剤治療継続の障害となるだけでなく、臓器 D の機能を悪化させる原因となり、抗がん剤治療継続における大きな障害となっている。このような背景から、臓器 E 機能阻害薬投与下における臓器 D の機能低下を予防、あるいは改善させる治療アプローチの創出が臨床的に強く求められている。

これまで Ligand X は主に細胞 B に作用し、Ligand X 受容体を介して臓器 E の形成プロセスを活性化することが報告されてきた。Ligand X 阻害薬による臓器 D の機能低下の病態機構として、一義的には臓器 D の組織における臓器 E の構造の破綻等が想定されている。しかし最近、Ligand X は細胞 B 以外の細胞にも作用し、細胞内シグナルを介してその活性制御に働くことが徐々に明らかになりつつある。例えば、モノサイト、マクロファージは Ligand X 受容体を発現し、Ligand X および Ligand W を介して細胞遊走を惹起すると考えられている。また細胞 F においても Ligand X 受容体が発現し、細胞 F 保護的に作用すること、更に Ligand X シグナルの低下により疾患 G 様の病態を発症することも報告されている。これらの知見は、Ligand X が必ずしも細胞 B のみを標的とするリガンドではなく、非細胞 B の機能保持においても重要な役割を果たしていることを示している。

上記知見を基に、私は本研究において Ligand X が細胞 A に直接作用し、臓器 D 保護効果を発揮しているとの仮説を立てた。この仮説検証を通じて細胞 A における Ligand X の直接的作用の分子機構を解明するのみならず、Ligand X 阻害薬投与下における臓器 D の機能回復治療実現に向けた分子標的を同定することを目指す。

本研究では、まず単離した培養細胞 A を用いて、Ligand X が直接的に細胞 A へ作用すること、細胞内 MAP キナーゼシグナルを活性化すると共に、遺伝子 M を含む N 関連遺伝子発現を誘導することを示した。さらに成獣マウスより臓器 D 組織を構成する細胞 A、細胞 B、細胞 C をそれぞれ単離し、qPCR 法を用いて遺伝子発現解析を行ったところ、細胞 A において Ligand X 受容体が発現していることを確認した。また、細胞 A における物質 L の発現誘導に Ligand X が必須であることも判明した。これら *in vitro* 培養細胞での実験結果を *in vivo* レベルで検証すべく、私は細胞 A 特異的 Ligand X 受容体欠損マウス(以下、Ligand X 受容体欠損マウス)を樹立した。

成熟した細胞 A で発現する遺伝子 K のプロモーター下に cre リコンビナーゼを発現するマウスを使用した。Ligand X 受容体欠損マウスでは発生、成育、体重増加において特に明らかな異常を認めず、また臓器 D の機能も正常であった。これらの知見は、成獣の細胞 A における Ligand X が個体発生、発育および安静時の臓器 D の機能保持において必須では無いことを示していた。

次に Ligand X 受容体欠損マウスを用いて、高血圧、心室後負荷誘導型の心肥大・心不全

病態モデルとして知られている TAC モデルを用いた解析を行った。TAC 負荷前において Ligand X 受容体欠損マウスの臓器 D の機能はコントロールマウスと同等であったが、TAC 負荷 2 週間後より Ligand X 受容体欠損マウスの臓器 D の機能は急激に低下した。これらのことより細胞 A における Ligand X は安静時の機能保持に必須ではないが、後負荷増大後の臓器 D の機能保持において重要な役割を果たすことが示された。そこで、Ligand X 受容体欠損マウスにおいて後負荷増大後に臓器 D の機能が低下する機序として 2 つの可能性を考えた。一つは、急性期の臓器 D の適応を阻害することで、臓器 D の機能低下を惹起したという可能性ともう一つは圧負荷時の物質 L の発現誘導を低下させることで臓器 D の機能低下を惹起したという可能性である。本研究において Ligand X 受容体欠損マウスでは TAC1 週間後の臓器 D の重量が有意に減少していた。このことは、現象 J が阻害されるという前者の可能性を支持する所見である。一方圧負荷後の臓器 D において、物質 L の発現は Ligand X 受容体欠損マウスで低下しておらず、むしろ増加していた。これは Ligand X 受容体欠損マウスにおける臓器 D の機能低下が原因になっている可能性がある。今後、物質 L の分解酵素 I の阻害薬を投与するなど物質 L を補充することで後者の可能性について検証できると考えられる。

本研究により、Ligand X 阻害薬が細胞 B のみならず細胞 A に直接的に作用して臓器 D の機能を低下させていることが明らかになった。Ligand X 阻害薬の抗がん剤治療効果を保ちつつ、その副作用である臓器 D の機能低下を減弱させることを想定した場合、細胞 A における Ligand X の直接作用は非常に有力な治療標的になると考えられる。