

64 心臓線維化病態の解明と心不全治療法の開発 武田 憲彦

【目的】心臓はポンプとして収縮・拡張を繰り返すことで全身に血液を駆出しており、心臓の収縮あるいは拡張機能が低下するとそれぞれ収縮不全・拡張不全と呼ばれる心不全病態が引き起こされる。心臓線維化は拡張不全の主な原因であるが、なぜ心臓線維化が引き起こされるのかその分子病態は未だ明らかではない。本研究は心臓線維芽細胞が活性化する機構を解明し、心不全に対する治療法開発へと繋げることを目的とする。

【方法】本研究では酸素・栄養素環境に着目し心臓線維化における役割を検証した。線維芽細胞の培養株である NIH3T3 細胞から放出される細胞外マトリクスを用いて検出し、虚血環境が線維芽細胞活性化に与える影響とその分子機構の解明に取り組んだ (計画 1)。次に心臓線維芽細胞活性を検出するレポーター細胞を作製し、心臓線維芽細胞活性化の分子機構を理解すべく、その細胞内シグナルの探索を行った (計画 2)。

【結果】計画 1：線維芽細胞株 NIH3T3 細胞を、酸素濃度を 21% から 1% へ低下させる (低酸素負荷)、あるいは培養液中の血清を除いた条件 (無血清負荷) および低酸素・無血清負荷を加えた環境で培養し、培養上清に含まれる細胞外マトリクスをシリウスレッド染色および I 型コラーゲン抗体で検出した。その結果、低酸素負荷、無血清負荷によりそれぞれ NIH3T3 培養上清中に放出されるコラーゲン量が増加すること、低酸素・無血清負荷では著しく増加することを見出した。計画 2：コラーゲンプロモーター下に GFP を発現するマウス (Collagen-GFP、Col-GFP) より心臓線維芽細胞を単離し SV40 を用いて不死化した。不死化した心臓線維芽細胞をクローン化し、コラーゲン産生を GFP シグナル強度として検出できる細胞株 B1-1 を樹立した。レンチウイルスを用いてプール型 shRNA を導入し、線維芽細胞活性化を制御する細胞内シグナルの探索を行った。

心臓線維芽細胞における酸素パラドクス

