

令和元年 8 月 9 日

## 心血管疾患の細胞治療に係る心筋細胞への取り込みメカニズムを解明 ～ 有用な治療法への期待 ～

名古屋大学大学院医学系研究科循環器内科学の竹藤 幹人 助教、江口 駿介 客員研究者、室原 豊明 教授らの研究グループは、心血管疾患において、これまで不明だった細胞外小胞<sup>※1</sup>が心筋細胞に取り込まれるメカニズムを明らかにしました。

心不全および急性心筋梗塞を代表とする心血管疾患は、世界中で依然として主な死亡原因となっており、それに係る細胞治療は新しい治療法として注目されています。細胞治療に用いられる間葉系幹細胞<sup>※2</sup>は、心筋保護に関与する可能性がある因子を産生及び分泌することが知られていますが、その因子が含まれる細胞外小胞の心筋細胞への取り込みメカニズムは明らかにされていませんでした。

研究チームでは、間葉系幹細胞の 1 つである脂肪由来再生細胞 (ADRC) <sup>※3</sup> を用いて実験を行い、心筋細胞に ADRC の培養液から抽出した細胞外小胞を添加することで、心筋細胞への取り込みメカニズムを検討しました。その結果から、心筋細胞においてクラスリン依存性エンドサイトーシス<sup>※4</sup>が、アポトーシス<sup>※5</sup>を阻害する細胞外小胞関連のマイクロ RNA<sup>※6</sup> の取り込みに重要な役割を果たしていることが示されました。ADRC 由来の細胞外小胞が、損傷した心筋細胞にマイクロ RNA を優先的に運搬するための有用な治療法となる可能性があることを示唆しています。

本研究成果は、2019 年 6 月 19 日付け「Journal of Biological Chemistry」電子版に掲載されました。

## ポイント

- 心筋梗塞などの心血管疾患は、未だに世界中で多くの死亡原因となっています。
- 心不全及び急性心筋梗塞に対する新しい治療法として細胞治療が注目されています。
- 細胞治療源として重要となる間葉系幹細胞は、心筋保護に関与する可能性がある因子を産生および分泌することが知られていますが、それら因子の心筋細胞への取り込みメカニズムは明らかにされていませんでした。
- 本研究ではクラスリン依存性エンドサイトーシスが、アポトーシスを阻害するマイクロ RNA を含んだ細胞外小胞の取り込みにおいて重要な役割を果たしていることを明らかにしました。

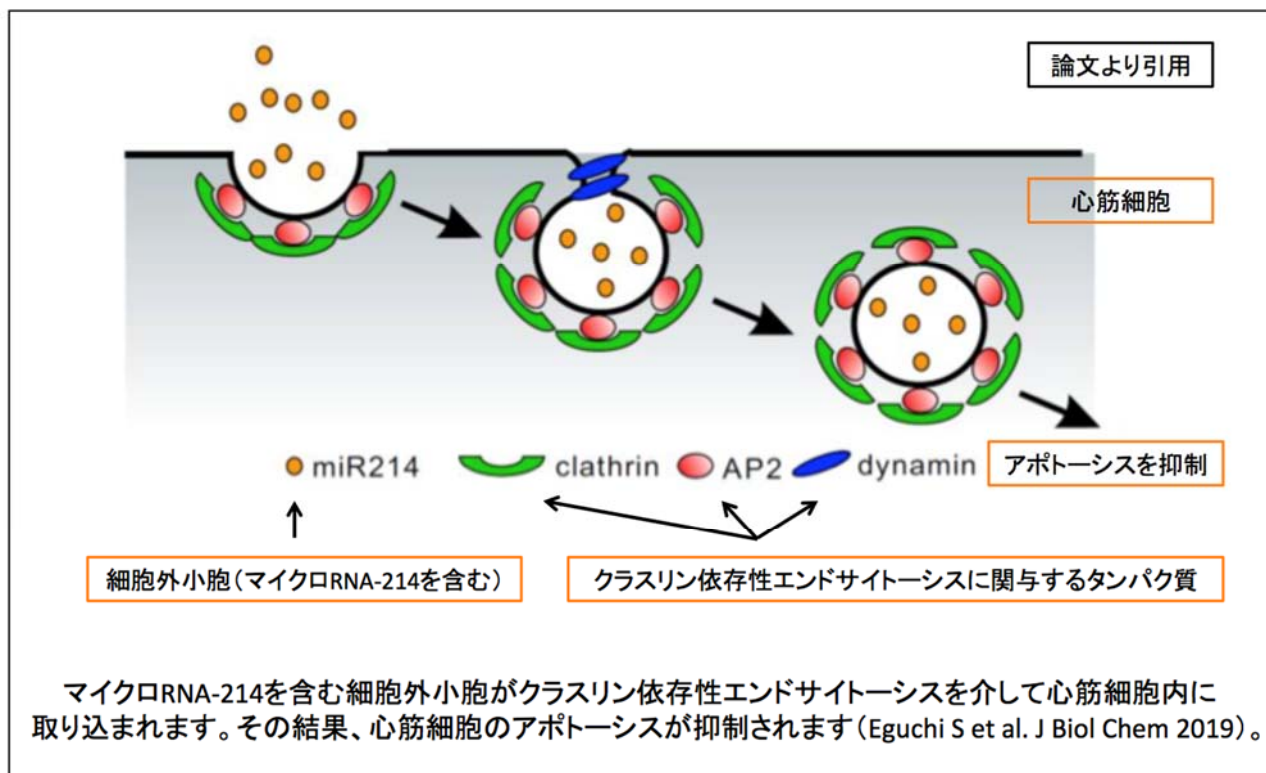
## 1. 背景

近年、喫煙、脂質異常症及び高血圧などの心血管疾患における危険因子がより厳密に治療されてきたことで、心筋梗塞の発生率は減少してきています。しかしながら、心筋梗塞を含む心血管疾患は世界中で依然として主な死亡原因です。そのような状況下で、細胞治療は心不全及び急性心筋梗塞を改善させる治療法として注目されてきています。細胞治療源としての間葉系幹細胞は、細胞保護及び血管新生に関与する可能性があるタンパク質や核酸（マイクロ RNA を含む）を産生及び分泌することが知られています。マイクロ RNA は遺伝子の発現を調節する機能を備えています。間葉系幹細胞由来の分泌因子（マイクロ RNA を含む）は細胞外小胞に包埋されることで、安定した状態で血液・組織液中を移動でき、細胞間コミュニケーションに関与すると考えられています。しかし、細胞外小胞の心筋細胞への取り込みメカニズムは明らかにされていませんでした。

## 2. 研究成果

研究チームは心機能改善における細胞外小胞の役割を明らかにするために、間葉系幹細胞由来の細胞外小胞の心筋細胞への取り込みが急性心筋梗塞に及ぼす影響を調べました。

最初に、ADRC の培養液を心筋細胞に加えることにより、低酸素下での心筋細胞の損傷が抑制されることがわかりました。マウス心筋梗塞モデルの心臓に ADRC を心筋内注射することにより、心臓梗塞領域が減少し、急性心筋梗塞後の心破裂が抑制されました。35 個の抗アポトーシス作用を有するマイクロ RNA の発現量を測定したところ、マイクロ RNA-214<sup>\*7</sup> が ADRC 中で最も多く発現していることが明らかになりました。次に、ADRC におけるマイクロ RNA-214 を抑制し、同様の実験を行ったところ、心筋細胞に対する ADRC の抗アポトーシス作用が抑制されました。また、細胞外小胞の心筋細胞への取り込みを調べるために、蛍光色素で標識した ADRC 由来の細胞外小胞を加えて心筋細胞を培養し、低酸素条件下では心筋細胞中の細胞外小胞が増加することを見出しました。クラスリン依存性エンドサイトーシスの阻害剤を使用することで、標識細胞外小胞の取り込み及びマイクロ RNA-214 の取り込みの両方が減少することが明らかになりました。本研究結果により、心筋細胞におけるクラスリン依存性エンドサイトーシスが、アポトーシスを阻害する細胞外小胞関連のマイクロ RNA の取り込みにおいて重要な役割を果たすことを示されました。



### 3. 今後の展開

本研究の重要な点は、ADRC から分泌された細胞外小胞中のマイクロ RNA-214 が急性心筋梗塞によって誘発される心破裂を抑制することです。また、心筋細胞におけるクラスリン依存性エンドサイトーシスが細胞内へのマイクロ RNA の輸送において重要な役割を果たしているということです。損傷した心筋細胞は、クラスリン依存性エンドサイトーシスが活性化されることにより、正常な心筋細胞よりも積極的に細胞外小胞を取り込む可能性があることも分かりました。さらに、ADRC 由来の細胞外小胞が、損傷した心筋細胞にマイクロ RNA を優先的に運搬するための有用な治療法となる可能性も示唆されました。

### 4. 用語説明

- ※1 細胞外小胞：あらゆる細胞から分泌される小胞であり、その内部には マイクロ RNA などの RNA やタンパク質といった多くの情報伝達物質が内包されています。
- ※2 間葉系幹細胞：様々な種類の細胞に分化することができ、自己複製能をもつ多能性細胞のことです。骨髄、脂肪、臍帯、滑膜などに含まれています。
- ※3 脂肪由来再生細胞：間葉系幹細胞の1つであり、脂肪組織から採取することができます。
- ※4 クラスリン依存性エンドサイトーシス：細胞外物質（栄養素など）を細胞内に取り込む過程の1つです。クラスリンというタンパク質が取り込みに大きく関与しています。
- ※5 アポトーシス：細胞死の1つの種類であり、炎症を誘導せず、組織の破壊が起こらないことが特徴です。
- ※6 マイクロ RNA：20 個前後という少数の塩基から構成される RNA であり、遺伝子の発現を調節する機能を備えています。

※7 マイクロ RNA-214: マイクロ RNA の 1 つであり、様々な遺伝子の発現を調節することで細胞のアポトーシスを抑制することが知られています。

## 5. 発表雑誌

雑誌名 : Journal of Biological Chemistry (2019 年 6 月 19 日の電子版に掲載)

論文タイトル : Cardiomyocytes capture stem cell-derived, anti-apoptotic microRNA-214 via clathrin-mediated endocytosis in acute myocardial infarction

著者 : Shunsuke Eguchi, Mikito Takefuji, Teruhiro Sakaguchi, Sohta Ishihama, Yu Mori, Takuma Tsuda, Tomonobu Takikawa, Tatsuya Yoshida, Koji Ohashi, Yuuki Shimizu, Ryo Hayashida, Kazuhisa Kondo, Yasuko K. Bando, Noriyuki Ouchi, Toyoaki Murohara

所属 : Department of Cardiology, Nagoya University School of Medicine, Nagoya, Japan, 65 Tsurumai, Showa, Nagoya, 466-8550, Japan.

DOI : [10.1074/jbc.RA119.007537](https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.007537)

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Jou\\_of\\_Bio\\_190809en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Jou_of_Bio_190809en.pdf)