

選択的老化細胞除去による動脈硬化治療法の開発

蕭 詠庭

国立循環器病研究センター研究所 心血管老化制御部

【研究の背景】

加齢に伴い全身の臓器で老化細胞が蓄積する。老化細胞は周囲の若い細胞の老化形質を促進することも報告されており(バイスタンダー効果)、加齢性疾患(動脈硬化性疾患、心不全、心房細動、糖尿病など)の主要な病態基盤を形成する。細胞老化抑制は癌化のリスクが懸念されるため、選択的老化細胞除去(セノリシス)というアプローチが注目されている¹⁾。老化細胞除去効果を有する薬剤はセノリティクスと総称される。ダサチニブやケルセチン(D+Q)はセノリティクス効果を有し、マウスに投与すると動脈硬化、肥満や糖尿病、心不全、老齢マウスに伴う病態がリバーズすることが報告されている。現在探索されているセノリティクスの多くは抗がん剤などの薬剤である点が問題である²⁾。そこで我々の研究グループは、セノリティクス効果を有する食品成分を探索することによりセノリシスを日常に組み込む方法を確立したいと考えた。日常的に老化をリバーズすることで健康寿命の延伸が可能となる。我々は世界に先駆けて心房細動モデルマウスの開発に成功した。既存のセノリティクス薬を投与することで洞調律に回復することもわかっており、世界に対して優位性を保ちつつ本研究課題を遂行することが可能となる。

【目 的】

本研究の目的は、選択的老化細胞除去(セノリシス)による心房細動リバーズ法の開発にある。ハーブ成分等、食材として日々摂取できるものからセノリシス効果を有する物質を探索する。選択的老化細胞除去システムとして特に補体経路に着目し、心房細動モデルマウス、各種細胞実験、バイオインフォマティクスを用いた包括的検討を行う。

【方 法】

老化細胞除去効果を保有する食品成分の探索、特にハーブ成分に着目した検討を行う。常磐植物化学研究所及びインドネシア大学からハーブの提供を受け検討を行う。内皮細胞や線維芽細胞を老化させ、選択的老化細胞除去効果を保有するハーブのスクリーニングを行う。心房老化マウスを用いて心房細動モデルを作製する。In vitro の系で探索された老化細胞除去ハーブを投与し心房細動や動脈硬化病変がリバーズするか検討する。心房細動マウスに D+Q を投与すると洞調律に回復することがわかっており同様の効果を示すハーブを探索する。これまでの結果、老化内皮細胞(HUVEC)で補体経路防御分子である補体経路抑制分子の発現が上昇することがわかっている。老化細胞除去ハーブにより補体経路抑制分子の発現が減少し老化細胞が死滅することも明らかになっている。補体経路抑制分子及び補体経路がハーブで減少する詳細な分子機序の解明に検討する。補体経路抑制分子の発現は若齢細胞ではそれほど高くないが、補体経路による細胞障害が生じにくい機序の解明も目指す。また、老化に伴い補体経路抑制分子の発現が上昇するメカニズムも解明する。

1) 老化細胞除去効果を保有する食品成分の探索

特にハーブ成分に着目した検討を行う。常磐植物化学研究所及びインドネシア大学からハーブの提供を受け検討を行う。内皮細胞や線維芽細胞を老化させ、選択的老化細胞除去効果を保有するハーブのスクリーニングを行う。

2) 心房細動モデルマウスを用いた検討

心房老化マウスを用いて心房細動モデルを作製する。In vitro の系で探索された老化細胞除去ハーブを投与し心房細動

病変がリバーズするか検討する。心房細動マウスに D+Q を投与すると洞調律に回復することがわかっており同様の効果を示すハーブを探索する。

3) 選択的老化細胞除去システムとしての補体経路の検討 (in vitro)

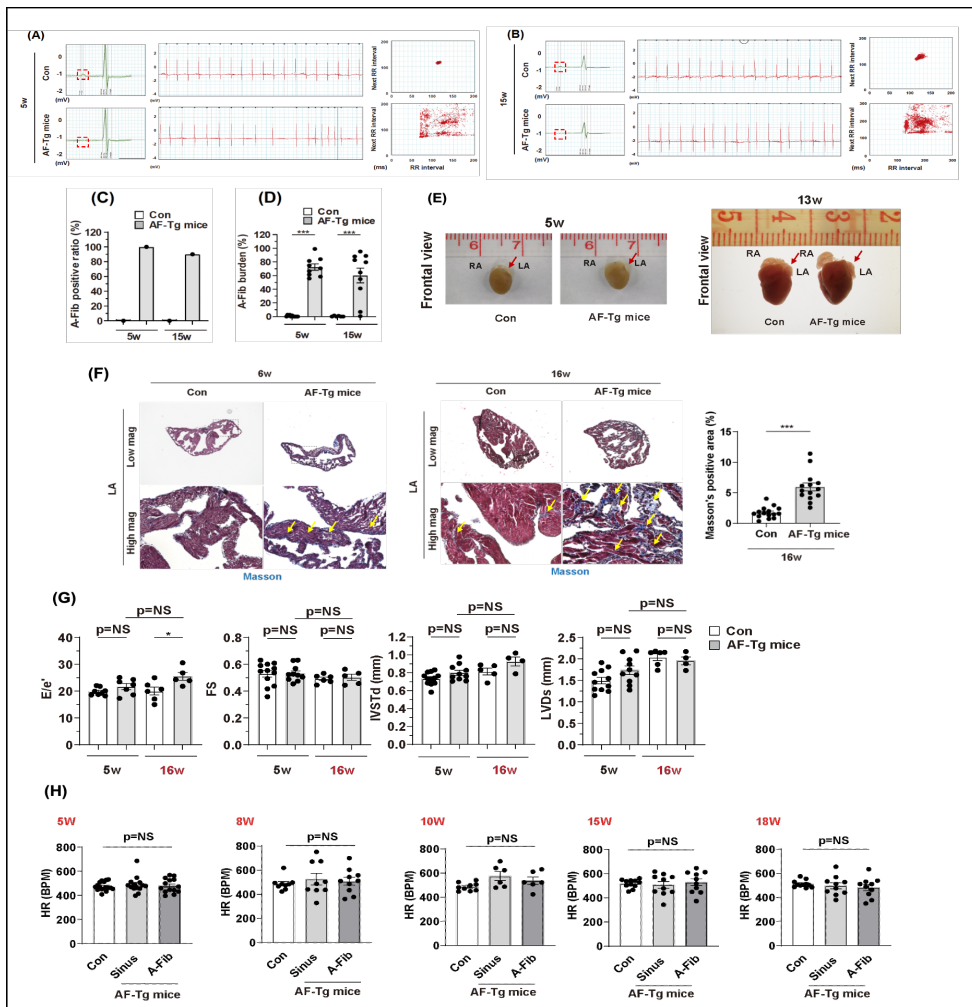
予備的検討の結果、老化マウスの大動脈、老化内皮細胞 (HUVEC) で補体経路防御分子である補体経路抑制分子の発現が上昇することがわかっている。老化細胞除去ハーブにより補体経路抑制分子の発現が減少し老化細胞が死滅することも明らかになっている。補体経路抑制分子がハーブで減少する詳細な分子機序の解明に挑む。

4) 内在性老化細胞除去システムとしての補体経路の検討 (in vivo)

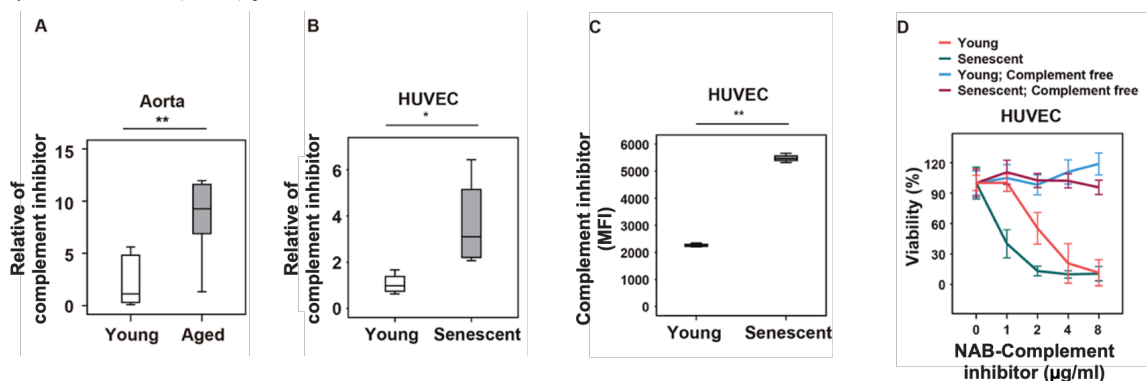
老化→補体経路抑制分子発現上昇→補体経路による細胞障害からの回避という仮説を検討する。心房細動マウスと交配することでトリプル Tg マウスを作製し、病態がリバーズするか検討する。NIH の Claudia Kemper から補体分子インディケーターマウス (補体分子 TdTomato マウス) の提供を受け、肝臓に由来しない補体経路の活性化を介したセロリシス機序を検討する。

【結 果】

昨今、我々は自発的に心房細動を発症するマウスモデルの作製に成功した (特許出願準備中)。この心房細動マウス (Tg マウス) は、ストレスや治療なしで、早ければ生後 5 週齢で心房細動の症状が発見した (下図 A, H)。心房の拡大と心房重量の増加が確認された (下図 E)。また、Tg マウスでは P 波が消失し、5~15 週齢のマウスにおける心房細動の発生率は 60~70% 程度だった (下図 A-D)。病理学的所見では、6~7 週齢で細胞間スペースの増加が確認され、16 週齢では線維化が見られた (下図 F)。超音波心臓診断のデータによれば、Tg マウスでは心室中隔の厚さが増加しており、収縮機能および心拍数は遺伝子型間で比較可能だった (下図 G-H)。さらに、RNA シーケンシングデータから、Tg マウスにおいて電気的リモデリングが発生している可能性が示唆された。



老化内皮細胞(HUVEC)で低濃度の補体経路抑制分子中和抗体又はHUVECに投与すると若いHUVECには影響がないものの、老化HUVECが死滅することもわかった。また、老化HUVECが死滅関連の補体経路による細胞障害が生じにくい機序の解明もわかった(下図)。



- A : 老化マウス (Aged) では補体経路抑制分子のmRNAレベルが上昇する。
 B : 老化内皮細胞 (HUVEC) では補体経路抑制分子のmRNAレベルが上昇する。
 C : 老化内皮細胞 (HUVEC) では補体経路抑制分子のタンパクレベルが上昇する。
 D : 補体経路抑制分子中和抗体を投与すると、低容量 (1ug/ml) では老化内皮細胞 (HUVEC) のみ除去され、2ug/m以上では若いHUVECも除去される。補体が存在しない培養液 (Complement free) ではこれらが両者でキャンセルされる。

【考 察】

老化→補体経路抑制分子発現上昇→補体経路による細胞障害からの回避という仮説を検討する。p16-Cre ERT2; 補体経路抑制分子 $flox/flox$ (p16-Cre; 補体経路抑制分子 $flox/flox$) マウスを開発し(中西、藤原ら)、現在コロニーを増やしているところである。タモキシフェン誘導により老化細胞で補体経路抑制分子の発現を低下させ老化がリバースするか検討する。心房細動や ApoE KO マウスと交配することでトリプル Tg マウスを作製し、病態がリバースするか検討する。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

セノリシスを日常に組み込み、心房細動や動脈硬化性疾患の病態をリバースする方法の確立に本研究課題で挑む。補体経路を介したセノリシス法の開発を目指す点でも極めて新規性が高い。心房細動モデルマウスの開発は世界に先駆けて我々が開発に成功し、他の追従を許さない研究を遂行することが可能である。

【参考・引用文献】

- 1 Brundel, B. *et al.* Atrial fibrillation. *Nat Rev Dis Primers* **8**, 21 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41572-022-00347-9>
- 2 Takahashi, Y. *et al.* Histological validation of atrial structural remodelling in patients with atrial fibrillation. *Eur Heart J* **44**, 3339–3353 (2023). <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad396>