

Title	Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression.
Sub Title	エンドセリン-1は神経成長因子を誘導し心臓交感神経系の発達を制御する
Author	家田, 真樹
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.23-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0023">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0023</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression.

(エンドセリン-1は神経成長因子を誘導し心臓交感神経系の発達を制御する)

家 田 真 樹

## 内容の要旨

心臓は自律神経支配を豊富に受け、その活動は自律神経系により綿密に調節されている。交感神経支配が心臓にとって重要であることはよく知られているが、その神経支配形成に関与する分子機構はほとんど明らかとなっていない。Nerve growth factor (以下NGFと略す)は神経支配臓器より神経終末側に向かって逆行性に分泌され、神経の発生、維持に重要な役割を果たすが、心筋内のNGF制御機構、心臓から分泌されたNGFが心臓交感神経系形成に与える影響などは不明であった。そこで本研究では、まず心筋細胞でNGFを制御する分子について検討した。その結果、Endothelin-1 (以下ET-1と略す)のみがNGFを特異的に誘導し、アンジオテンシンII、フェニレフリン、Leukemia inhibitory factor、IGF-1などは影響しなかった。このET-1刺激によるNGF誘導はETA受容体、Giβγ、PKC、src family、EGFR、ERK、p38MAPKを介し、PKA、PI3K、CaMKを介さないことが、シグナル伝達物質の特異的阻害薬、ドミナントネガティブアデノウイルス、プラスミドを使用した実験より明らかとなった。またNGFプロモーター領域にはAP-1、C/EBPδがあるが、双方ともET-1-NGF経路に関与することがルシフェラーゼアッセイにより示された。ET-1刺激した心筋細胞の培養上清液や心筋細胞との共培養下でのET-1刺激によりPC12細胞の神経分化が促進し、またこの作用はNGFに対する中和抗体で抑制された。これよりET-1刺激により心筋細胞から誘導されたNGFがPC12細胞の神経分化を誘導したと考えた。

次に、実際に生体心においてET-1はNGFを制御するか、またET-1-NGF経路が心臓交感神経系の形成に与える影響などを調べるため、Edn1-deficient mice (以下Edn1<sup>-/-</sup>と略す)の解析を行った。胎生18.5日目のEdn1<sup>-/-</sup>は野生型と比べ心臓内NGF、交感神経線維、ノルエピネフリン含量が減少していたが、Angiotensinogen-deficient miceでは変化をみとめなかった。Edn1<sup>-/-</sup>では星状神経節の発達も障害されていたが、神経提細胞の移動、神経細胞の増殖、分化などは障害されておらず、TUNEL法の結果、過剰のアポトーシスが神経細胞数減少の原因として示唆された。また心臓特異的NGF過剰発現マウスとEdn1<sup>-/-</sup>を掛け合わせ、Edn1<sup>-/-</sup>の心臓内NGFの減少を救済したマウスを作製し解析したところ、心臓交感神経系の発達障害が改善していることが明らかとなった。以上の結果より、生体心においてもET-1がNGF誘導に必須であること、また心臓内ET-1-NGF経路により心臓交感神経系の発達が調節されていることが示された。

## 論文審査の要旨

近年、心臓再生研究が臨床、研究両面より注目を集めており、それに伴い心臓血管系の発生分化に関する知見が増加してきた。心臓交感神経は生体において重要だが、その形成に関与する分子機構はほとんど明らかとされていない。NGFは神経支配臓器より神経側に向かって分泌され、神経形成に重要な役割を果たすが、NGF制御機構、心臓交感神経系に与える影響などは不明であった。そこで本研究では培養心筋細胞を用い心筋細胞内のNGF制御を明らかとし、生体心におけるET-1-NGF経路が交感神経系に与える影響を解明するためET-1欠失マウス、心臓特異的NGF過剰発現マウスを用い解析を行った。その結果、ET-1刺激は心筋細胞内でNGFを誘導すること、ET-1刺激によるNGF誘導はGiβγ、PKC、src family、EGFR、ERK、p38MAPK、AP-1、C/EBPδを介すること、ET-1刺激により心筋細胞から分泌されるNGFはPC12細胞の神経分化を促進することなどが示された。ET-1欠失マウスでは心臓内のNGF、交感神経、星状神経節内神経細胞数が減少すること、心臓特異的にNGFを過剰発現するとその交感神経系の発達障害が改善することが示され、心臓でのET-1-NGF経路が心臓交感神経系の形成に必須であることが明らかとされた。

審査では、ET-1欠失マウスにおける星状神経節細胞数が減少する機序について質問があった。これに対しNGF欠失マウスでも同様に神経細胞数が減少すること、心臓特異的NGF過剰発現でET-1欠失マウスの表現型が救済されたこと、神経細胞がNGF依存性となっている時期に一致して細胞数減少が観察されたことなどが示された。次に心筋細胞内でのET-1-NGF経路について質問があった。これに対して、今回の阻害薬、ウイルスを用いた結果や過去の報告などを踏まえ想定されたシグナル伝達経路が示された。次に4種類のNGF転写産物量を心臓、脳、顎下腺で示した理由について質問があった。これに対して各臓器での転写の相違を検討し、また転写産物によっては転写制御部位が異なるためluciferase assayの結果に影響しうるなどの説明がされた。また本研究の結果を今後どのように臨床に結び付けていくかとの質問があった。心筋梗塞、心不全などの病態においてET-1が上昇し、また神経再支配の時期に一致して不整脈などの突然死が起きることなどが知られており、今後ETA受容体拮抗薬、遺伝子治療などを開発する際はET-1-NGFによる交感神経系への影響も考慮した治療戦略を練ることが重要との回答がされた。

以上のように本研究は検討されるべき点を残しているものの、心臓交感神経系の発生に関与する分子機構をはじめ明らかにした点や、今後心臓神経間のクロストークにも注目し治療を行う必要性を指摘した点などで有意義な論文と評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 小川 聡  
解剖学 仲嶋 一範 外科学 四津 良平  
生理学 柚崎 通介  
学力確認担当者：北島 政樹、仲嶋 一範  
審査委員長：仲嶋 一範

試問日：平成17年 1月11日