

## 特集

## 心・血管系における炎症と再生—肝細胞増殖因子 (HGF) の心・血管・腎・脂肪組織への修復作用—

谷山 義明<sup>\*1,2</sup>, 東 純哉<sup>\*1,2</sup>  
 楽木 宏実<sup>\*2</sup>, 森下 竜一<sup>\*1</sup>

## 要 約

肝細胞増殖因子 (HGF) は肝細胞分裂促進因子として同定され, その後様々な臓器修復作用が報告されている. 我々は HGF の機能として, ①抗アポトーシス作用, ②抗線維化作用, ③血管新生作用, ④一次造血作用, ⑤抗酸化ストレス作用などを報告してきた. 今回は, HGF による腎臓での TGF- $\beta$  とアンジオテンシン II による悪循環抑制による抗線維化作用が明らかとなった. また, 酸化ストレス化に HGF は内皮細胞に対して抗老化作用を伴った血管新生作用を有し, 平滑筋細胞の増殖を抑制する効果が明らかとなった. この機序として HGF の受容体 c-Met が SHIP を上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) からトランスロケーションし, その結果 EGFR がユビキチン化され EGFR のシグナルが抑制されることを解明した. 興味深いことに HGF は通常状態では EGFR を抑制せず, EGFR が活性化された状態でのみ抑制するメカニズムを有しており生体にとって安全で重要な保護効果を持っていることが明らかとなった.

## はじめに

肝細胞増殖因子 (HGF) は, 肝細胞分裂促進因子として同定され, その後様々なシグナルが解明されるとともに (図1), 臓器修復作用が報告されている. そこで我々は, 以前より HGF の再生医療への可能性を研究している. 我々は HGF の機能として,

①抗アポトーシス作用<sup>1)</sup>, ②抗線維化作用<sup>2~4)</sup>, ③血管新生作用<sup>4~6)</sup>, ④一次造血作用<sup>7)</sup>, ⑤抗酸化ストレス作用などを報告してきた. HGF の抗線維化作用としては HGF による TGF- $\beta$  抑制作用が報告されているものの, その機序は明らかになっていない. 今回 HGF の腎臓における TGF- $\beta$  産生抑制作用のメカニズムの一部を解明したので報告する. また, 血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) などの血管新生作用を用いた虚血性疾患への遺伝子治療が世界中でいくつも行われたが現在のところ Phase III で十分な効果を証明した臨床研究はなかった. 一方, HGF の閉塞性動脈硬化症への遺伝子治療の Phase III において比較的少数ではあるが下肢潰瘍の有意な改善が報告された. 動物実験では血管新生作用が多数報告された VEGF が臨床で効果が出なかったこと, また培養系においてほぼ同様のシグナル伝達の報告されている HGF では臨床で効果のある可能性が残ったことの原因を解明するため臨床と mimic するため酸化ストレス化の実験を行い HGF と VEGF の違いを検討した.

## HGF の腎臓における筋線維芽細胞のアノキス誘導作用

これまで動物モデルにおいて HGF による TGF- $\beta$  の産生抑制作用は多数報告されているが, そのメカニズムは十分には明らかにされていない. そこで, 腎臓において病的状態で TGF- $\beta$  を著明に分泌する筋線維芽細胞に対する HGF の作用を検討した. メサングウム細胞から筋線維芽細胞を作り, HGF で刺激をかけたところ筋線維芽細胞は接着を阻害され浮遊することによってアポトーシスが誘

\*1 大阪大学大学院医学系研究科・臨床遺伝子治療学

\*2 同 老年・腎臓内科学

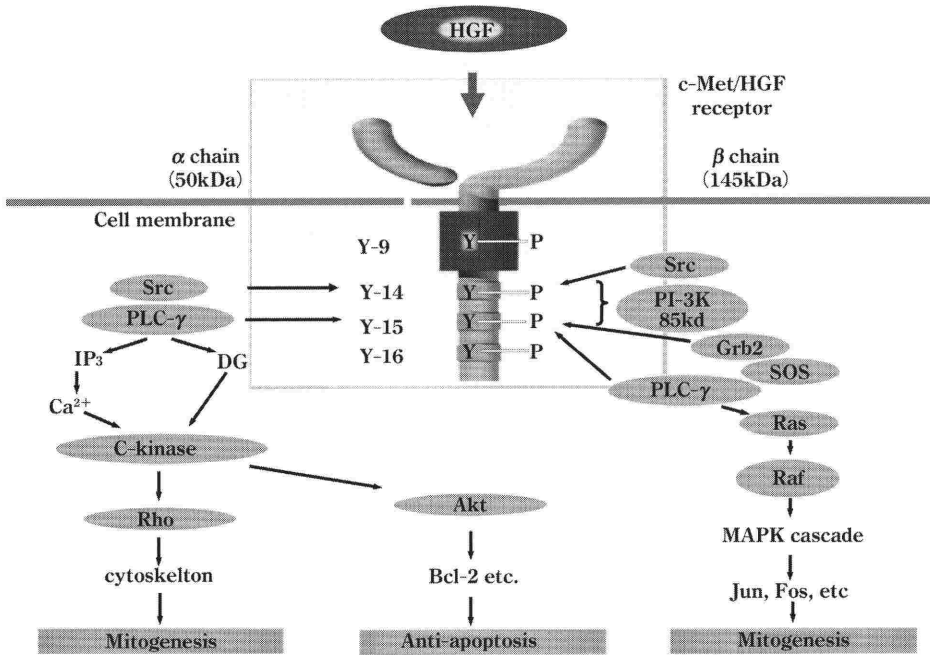


図1 HGFの多彩な細胞内シグナル

導された(アノイクスの誘導)。またこの時 MMP が分泌されていることがわかり、アンジオテンシン II による腎臓線維化が HGF のトランスジェニックマウスによって抑制され、MMP 阻害剤によって部分的にキャンセルされることが明らかとなった<sup>8)</sup>。

**HGF の腎臓における TGF-β とアンジオテンシン II の悪循環抑制作用**

上記のごとく HGF の TGF-β 抑制作用が筋線維芽細胞のアノイクス誘導であることが分かったがその効果は部分的であったため、さらなる機序の解明を行った。アンジオテンシン II は TGF-β を産生することが報告されており、TGF-β はアンジオテンシン II タイプ 1 型受容体(AT1R)を活性化させることも報告されている。つまり、RAS 系亢進下においてアンジオテンシン II と TGF-β はお互いにその下流のシグナルを活性する悪循環の系をもっている。この系に対する HGF の作用を検討してみた。TGF-β は Akt 経路を介して AT1R を活性化させているが、HGF は Akt の脱リン酸化を誘導する PTEN を活性することによって TGF-β から AT1R の経路を抑制していることが明らかとなった(図 2)<sup>9)</sup>。

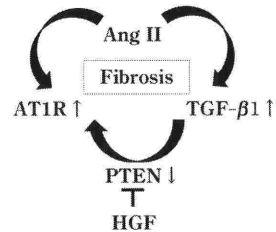


図2

アンジオテンシン II は TGF-β や AT1R を活性化させ、TGF-β は Akt 経路を介して AT1R を活性化させる悪循環が存在する。HGF は PIP を脱リン酸化する PTEN を上昇させることによって Akt の活性化を抑制し、TGF-β から AT1R を活性化する悪循環を抑制している。

Ang II; アンジオテンシン II, AT1R; アンジオテンシン II 1 型受容体

**HGF の内皮前駆細胞への抗老化、抗酸化ストレス作用**

血管新生因子として先行して研究されていた血管内皮細胞増殖因子(VEGF)との違いを臨床での環境を mimic させるため RAS 系亢進下での作用の比較検討を行った。血管内皮前駆細胞にアンジオテンシン II の持続投与を行うと、PI3K/Akt 経路が活性化され ROS が上昇し、急速に細胞老化が誘導さ

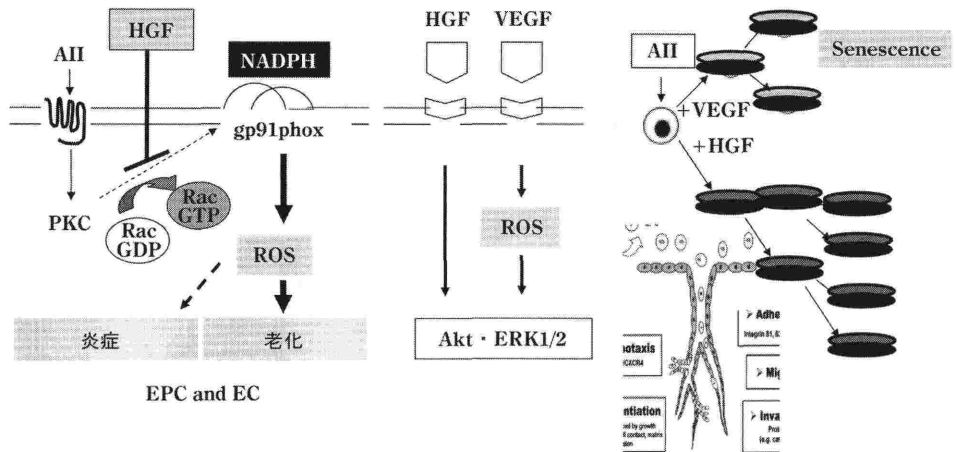


図3

アンジオテンシン II は NADPH を介して、炎症、細胞老化を誘導するが HGF は GTP 結合 rac1 から GTP 結合 rac1 への変化を抑制し、これらの作用を抑制する。結果、アンジオテンシン II 存在化では、VEGF は急性期には著明な細胞増殖効果があるものの老化を加速させるために慢性期に血管新生は持続しないが、HGF は細胞老化を抑制しつつ血管新生を誘導するので慢性期にも血管新生が持続される。

れ血管新生能は著明に抑制された。この系に対して VEGF を投与すると PI3K/Akt 経路はさらに亢進し老化はむしろ促進されるが HGF を投与すると PI3K/Akt 経路が抑制され、細胞老化の抑制を伴って血管新生能の著明な改善効果を確認した。またこの機序として HGF の GDP 結合 rac1 から GTP 結合 rac1 の変化を抑制する作用を解明した。図3に示すように HGF はアンジオテンシン II の NADPH の活性化を少なくとも rac1 にて抑制し内皮前駆細胞の老化を抑制していた<sup>10)</sup>。つまり、VEGF は内皮細胞や内皮前駆細胞の増殖を誘導するが酸化ストレス化では細胞老化を伴っており急性期には著明な血管新生効果を示すものの、慢性期には血管新生効果は退縮する。一方、HGF はこれに反して内皮細胞や内皮前駆細胞の老化を伴わずに増殖を行うので急性期のみならず、慢性期においてもその血管新生作用は維持されるのである。

### HGF の EGFR degradation 作用

また、この HGF の効果は血管平滑筋細胞においても確認された。すなわち、アンジオテンシン II 刺激化の平滑筋細胞の増殖、酸化ストレスを HGF は抑制した。上記の機序として HGF の受容体 c-Met が ligand dependent に上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) に結合する SHIP2 を競合的に阻害し、ユビキチン E3 ライゲースである cbl と EGFR の結合

を促進させ EGFR をプロテオソームで分解することを解明した(図4)<sup>11)</sup>。

### HGF のその他の作用

また LPS による敗血症・血管障害モデルにおいても EGFR 活性化を介した ROS の増加を起因とする臓器障害を HGF が抑制することを確認している。一方、メタボリック病態において HGF がマクロファージと脂肪細胞の vicious circle を抑制することも確認しており、様々な心血管病態に HGF の臓器保護作用が関与すると考えられる。(未論文データにて詳細は省略)

### 結 び

これまで HGF の臓器再生作用は多数証明されてきたが、今回抗線維化作用の機序として筋線維芽細胞のアノイキスを介した TGF- $\beta$  抑制作用、PTEN 活性化を介した TGF- $\beta$  の AT1R 増加抑制作用を解明した。さらに、アンジオテンシン II 刺激化に内皮細胞や内皮前駆細胞の細胞老化抑制を介した血管新生作用や、平滑筋細胞の抗酸化ストレス、増殖陽性作用の機序を解明した。HGF による様々な臓器の再生効果の機序の一部が解明された。

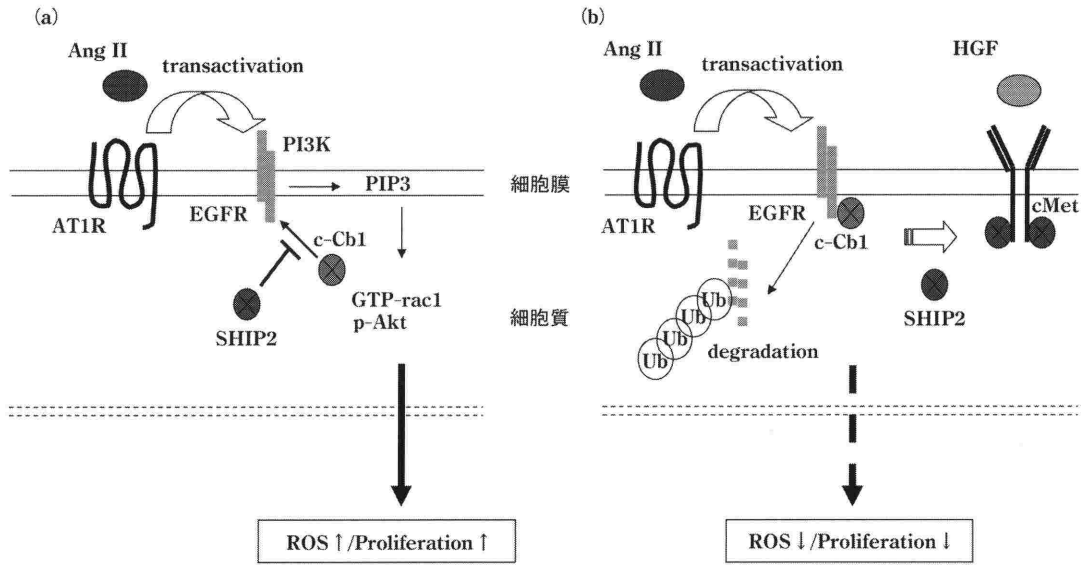


図4

(a) HGF がない状態では、血管平滑筋細胞にアンジオテンシン II の刺激が加わると SHIP2 が EGFR に結合し、ユビキチン E3 ライゲース cb-1 の EGFR への結合を抑制する。しかし、HGF がこの系において存在すると HGF 受容体である c-Met に SHIP2 が結合し、EGFR への結合が抑制される。すると、ユビキチン E3 ライゲース cb-1 の EGFR への結合が抑制されず EGFR がプロテオソームにおいて分解されることによって EGFR の下流のシグナルが抑制され酸化ストレスが抑制される (b)。

EGFR; 上皮細胞増殖因子受容体, ROS; 酸化ストレス, Proliferation; 増殖

## 文 献

- 1) Nakagami H, Morishita R, Yamamoto K, et al: Mitogenic and antiapoptotic actions of hepatocyte growth factor through ERK, STAT3, and AKT in endothelial cells. *Hypertension* 2001; 37 (2 Part 2): 581-6.
- 2) Taniyama Y, Morishita R, Nakagami H, et al: Potential contribution of a novel antifibrotic factor, hepatocyte growth factor, to prevention of myocardial fibrosis by angiotensin II blockade in cardiomyopathic hamsters. *Circulation* 2000; 102: 246-52.
- 3) Taniyama Y, Morishita R, Aoki M, et al: Angiogenesis and antifibrotic action by hepatocyte growth factor in cardiomyopathy. *Hypertension* 2002; 40: 47-53.
- 4) Azuma J, Taniyama Y, Takeya Y, et al: Angiogenic and antifibrotic actions of hepatocyte growth factor improve cardiac dysfunction in porcine ischemic cardiomyopathy. *Gene Ther* 2006; 13: 1206-13.
- 5) Taniyama Y, Morishita R, Aoki M, et al: Therapeutic angiogenesis induced by human hepatocyte growth factor gene in rat and rabbit hindlimb ischemia models: preclinical study for treatment of peripheral arterial disease. *Gene Ther* 2001; 8: 181-9.
- 6) Taniyama Y, Morishita R, Hiraoka K, et al: Therapeutic angiogenesis induced by human hepatocyte growth factor gene in rat diabetic hind limb ischemia model: molecular mechanisms of delayed angiogenesis in diabetes. *Circulation* 2001; 104: 2344-50.
- 7) Koibuchi N, Kaneda Y, Taniyama Y, et al: Essential role of HGF (hepatocyte growth factor) in blood formation in *Xenopus*. *Blood* 2004; 103: 3320-5.
- 8) Iekushi K, Taniyama Y, Azuma J, et al: Hepatocyte growth factor attenuates renal fibrosis through TGF- $\beta$ 1 suppression by apoptosis of myofibroblasts. *J Hypertens* 2010; 28: 2454-61.
- 9) Iekushi K, Taniyama Y, Kusunoki H, et al: Hepatocyte Growth Factor Attenuates Transforming Growth Factor- $\beta$ -Angiotensin II Crosstalk Through Inhibition of the PTEN/Akt Pathway. *Hypertension* 2011, Jun 13. [Epub ahead of print]
- 10) Sanada F, Taniyama Y, Azuma J, et al: Hepatocyte growth factor, but not vascular endothelial growth factor, attenuates angiotensin II-induced endothelial progenitor cell senescence. *Hypertension* 2009; 53: 77-82.
- 11) Sanada F, Taniyama Y, Iekushi K, et al: Negative action of hepatocyte growth factor/c-Met system on angiotensin II signaling via ligand-dependent epithelial growth factor receptor degradation mechanism in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 2009; 105: 667-75.