

令和元年5月29日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05295

研究課題名(和文) 心血管疾患の多臓器連携機序の解明と臨床応用

研究課題名(英文) Elucidation of organ crosstalk in cardiovascular disease

研究代表者

眞鍋 一郎 (Manabe, Ichiro)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：70359628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：世界的な心不全の急増は医療上の重要な課題となっている。我々はこれまでに、肥満脂肪組織に始まった炎症が遠隔組織に波及し、糖尿病や動脈硬化を促進することを見いだしていた。本研究ではさらに、慢性腎臓病において心不全が増加する心腎連関のあらたなメカニズムを明らかにした。心臓へのストレスに対して体が心臓-脳-腎臓を連携するネットワークによって適切に応答していることを見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化を背景に、複数臓器の病気を併発している患者が増えている。特に、心腎連関は心不全や慢性腎臓病の治療を難しいものとしている。本研究の成果は、心腎連関の全く新しいメカニズムを明らかにした。また、GM-CSFやAmphiregulin、受容体等、薬等で介入可能な分子を多数同定した。これらの分子を始めとして、本研究によって同定されたメカニズムは、心腎連関や心不全の治療標的となることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Heart failure pandemic has become an important medical and social burden world-wide. We previously showed that chronic inflammation initiated in obese visceral adipose tissue activates inflammation in distant tissues, such as the pancreas and heart, and promotes cardiovascular and metabolic disease. In this study we analyzed the mechanism that link the heart and kidneys in cardiorenal syndrome. We found that the heart-brain-kidney organ networks is crucial for proper response to cardiac stress. Dysfunction in this system impairs adaptation to cardiac stress, resulting in heart failure.

研究分野：循環器内科

キーワード：心不全 マクロファージ 臓器連関 自律神経 心腎連関

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満の増加や高齢化により、心血管疾患を始めとする生活習慣病は今後ますます増加し、さらに重大な医療・社会的な負担になると予想されている。特に心不全の急増は医療上の重大な課題となっている。近年、慢性炎症が生活習慣病に共通した基盤病態として注目されている。我々は、肥満脂肪組織にダイナミックな炎症プロセスが惹起されることを明らかにし、続いてメタボリックシンドローム・2型糖尿病、心肥大・心不全、動脈硬化、慢性腎臓病における慢性炎症の病態を明らかにしてきた。さらに、内臓脂肪組織を起点とする慢性炎症が複数の臓器へ波及・拡大することが、糖尿病や動脈硬化や重要な要因であることを明らかにした。

一方、慢性腎臓病 (CKD) が心疾患の重大なリスクとなることから、心臓と腎臓の間の密接な連携 (心腎連関) に注目が集まっているが、その分子機序は明らかではない。我々は、腎臓集合管上皮細胞特異的な転写因子 *Klf5* のノックアウトマウスが心不全を呈することを見いだした。この結果は、心臓と腎臓の連携が、適切な心臓ストレスへの応答に必須であることを示唆する。このように個体の中では様々なストレスに対して多システム間のダイナミックな連携によって恒常性が維持されており、この連携機序の変調と破綻が複数臓器の機能障害を誘導すると考えられる。

2. 研究の目的

生活習慣病の背景にある臓器間連携やシステム (器官) 間の連携機序について、特に免疫系と神経系をインターフェースとする臓器連携が果たす役割について明らかにすることを目的とする。システム連携を支える細胞、メディエータと情報伝達経路の同定と作用機序の解明を進め、腎臓由来サイトカイン等の新規治療標的分子を同定する。具体的には以下の項目について並行して研究を進める。(1) 腎臓による心筋間質細胞・心筋細胞の遠隔制御機構の解明、(2) 脳・神経系を介した心臓・腎臓連携の機序の解明、(3) システム連携を仲介する新たなメカニズムの探索と機序解明、(4) システム連携の機序を標的とした新規治療法の開発。以上により、循環器系が神経系や免疫系、代謝系等の複数システムとの連携によりストレスに適切に応答して個体の恒常性を維持する機序を明らかにし、この連携機序の破綻による心不全や動脈硬化進展の新しい理解を与えることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、心血管疾患を中心とする生活習慣病の発症・進展機序について、多システム間連携による恒常性の維持とその破綻の観点からその分子機序を明らかにすることを目的とする。そのため、以下の項目について並行して研究を進めた。(1) 腎臓による心筋間質細胞・心筋細胞の遠隔制御機構の解明、(2) 脳・神経系による心臓・腎臓連携の機序の解明、(3) システム間連携を仲介する新たな分子機序の探索、(4) システム連携を標的とした新規治療法の開発。特に、免疫系と神経系によって心臓・腎臓等の臓器間を連携させている分子機序を明確にする。遺伝的・薬理的・免疫学的介入による *in vivo* 解析や、*ex vivo* の解析結果、また RNA-seq 等によるゲノムワイド解析の研究結果を統合することにより、新たな視点による心血管系の機能維持と破綻の分子機序を理解するとともに、多システム間連携の仲介メカニズムを直接的な標的とする治療法開発を進めた。

4. 研究成果

我々は以前、腎臓集合管上皮が腎臓傷害に対する炎症応答を制御することを見いだしていた。この知見をもとに、腎臓集合管上皮が心腎連関にも寄与する可能性を検討した。この仮説を検証するために、集合管上皮細胞特異的な転写因子 *Klf5* 遺伝子のノックアウトマウスを作製し、横行大動脈結紮 (transverse aortic constriction, TAC) により左室へ慢性的圧負荷を与えた。その結果、コントロールマウスはほとんど心不全を発症しない条件でも、約 80% の集合管 *Klf5* ノックアウトマウスが心不全死することを見いだした。左心機能も低下した。心筋細胞肥大は抑制されており、TAC 後の心筋の応答が障害されていることが示唆された。

集合管上皮特異的 *Klf5* ノックアウトマウスにおいて TAC 後の応答が破綻する機序の解析を進め、心臓組織マクロファージが必須の役割を果たすことを見いだした。通常状態の心臓のマクロファージは大きく二つの集団に分けることができた。この2種のうち *Ly6C* というマーカーの発現が低い *Ly6C^{lo}* マクロファージは TAC により増加する。もう一方の *Ly6C^{hi}* マクロファージの数は変化しない。我々はこれらのうち *Ly6C^{lo}* マクロファージが amphiregulin (AREG) を分泌して、心筋細胞に働きかけ、心筋保護作用を発揮することを見いだした (図 1)。興味深いことに *Ly6C^{lo}* マクロファージは胎児期に心臓に入り込み、心臓の中で維持されているものであり、我々の解析結果から TAC に応

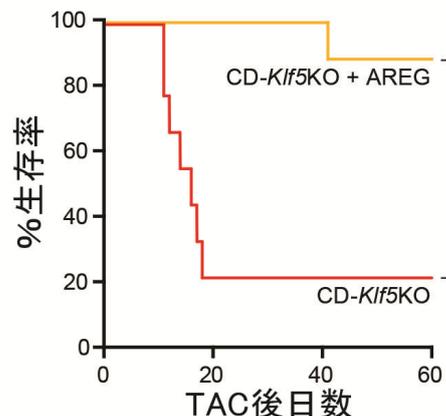


図1 腎臓集合管特異的 *Klf5* ノックアウトマウス (*CD-Klf5KO*) は TAC 後心不全を呈するが、Amphiregulin は心保護作用を示す。

答して心臓の中で増殖すると考えられた

集合管 *Klf5* ノックアウトマウスでは心臓 $Ly6C^lo$ マクロファージが増加しないことから、腎臓が何らかの機序により心臓マクロファージへ作用すると考えられる。我々は TAC 後に腎臓からサイトカインが分泌されるのではないかと考え、GM-CSF の発現が増加することを見いだした。GM-CSF の補充によって集合管 *Klf5* ノックアウトマウスの TAC 後心不全が抑制されることから、このマウスにおいて GM-CSF は心臓保護に働くと考えられる。

腎臓では集合管上皮細胞の活性化が、腎臓組織マクロファージと血管内皮細胞の活性化をもたらし、結果として GM-CSF の発現を誘導する。このように腎臓由来サイトカインが心臓に働きかけて恒常性を維持することを見いだした。

TAC がどのように腎臓での応答を誘導するかを検討した。自律神経の関与を想定し、腎動脈周囲を走る交感神経を切断したところ、TAC 後にマウスが心不全死することを見いだした。即ち、心臓圧負荷への適切な応答には腎臓交感神経が必須である。集合管上皮細胞は $\beta 2$ 受容体により交感神経に応答する。一方、心臓からの情報は求心路を介して脳に伝達される。このように自律神経系が心腎連関を仲介することが明らかとなった (図 2)。以上の結果から、神経系と免疫系が臓器間連携を仲介する重要なシステムであることが分かった。

AREG の作用機序についてさらに検討した。AREG は心筋細胞肥大を促進する。心筋細胞肥大 TAC 後の適応応答に必須なことから、圧負荷後の作用としては心筋細胞肥大の誘導が重要と考えられた。実際、*Areg* 遺伝子を欠く心臓マクロファージは、心臓へ移植したときに心保護作用を示さなくなった。

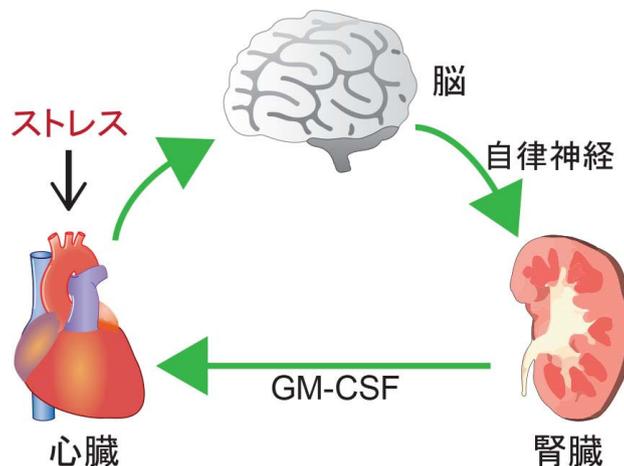


図 2 心臓-脳-腎臓ネットワークによる心臓ストレスへの応答機序

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

全て査読あり。

- ① Oishi Y, Manabe I. Macrophages in inflammation, repair and regeneration. *Int Immunol*. 2018, 30, 511-528
doi:10.1093/intimm/dxy054
- ② Oishi Y, Manabe I. Krüppel-Like Factors in Metabolic Homeostasis and Cardiometabolic Disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2018, 5, 69,
doi:10.3389/fcvm.2018.00069
- ③ Fujiu K, Shibata M, Nakayama Y, Ogata F, Matsumoto S, Noshita K, Iwami S, Nakae S, Komuro I, Nagai R, Manabe I. A heart-brain-kidney network controls adaptation to cardiac stress through tissue macrophage activation. *Nat Med*. 2017, 23, 611-622
doi:10.1038/nm.4326
- ④ Oishi Y, Hayashi S, Isagawa T, Oshima M, Iwama A, Shimba S, Okamura H, Manabe I. Bmal1 regulates inflammatory responses in macrophages by modulating enhancer RNA transcription. *Sci Rep*. 2017, 7, 1, 7086
doi:10.1038/s41598-017-07100-3.
- ⑤ Oishi Y, Spann NJ, Link VM, Muse ED, Strid T, Edillor C, Kolar MJ, Matsuzaka T, Hayakawa S, Tao J, Kaikkonen MU, Carlin AF, Lam MT, Manabe I, Shimano H, Saghatelian A, Glass CK. SREBP1 Contributes to Resolution of Pro-inflammatory TLR4 Signaling by Reprogramming Fatty Acid Metabolism. *Cell Metab*. 2017, 25, 412-427
doi:10.1016/j.cmet.2016.11.009
- ⑥ Oishi Y, Manabe I. Macrophages in age-related chronic inflammatory diseases. *NPJ Aging Mech Dis*. 2016, 2, 16018
doi:10.1038/npjamd.2016.18

[学会発表] (計 15 件)

- ① Ichiro Manabe, NeuroImmunoMetabolic regulation of cardiac physiology and heart failure, The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiology Societies (FAOPS) congress, 2019 年

- ② Ichiro Manabe, NeuroImmunoMetabolic regulation of cardiac homeostasis and heart failure, 3rd New Frontiers in Cell Death Signaling and Heart Failure Conference, 2019 年
- ③ Ichiro Manabe, NeuroImmunoMetabolic regulation of cardiac homeostasis and heart failure, 第 41 回日本分子生物学会年会、2018 年
- ④ 眞鍋一郎, 脳-心臓-腎臓連携による恒常性の維持とその破綻、第 37 回日本認知症学会学術集会、2018
- ⑤ 眞鍋一郎, 脳-心・腎連携による恒常性の維持、第 39 回日本肥満学会、2018 年
- ⑥ Ichiro Manabe, Macrophages and Interorgan Crosstalk in Cardiac Adaptation, Basic Cardiovascular Sciences 2018 Scientific Sessions, 2018 年
- ⑦ Ichiro Manabe, Immunometabolic regulation of cardiac homeostasis and heart failure in aging, International Meeting on RECQ Helicases and Related Diseases 2018, 2018 年
- ⑧ Ichiro Manabe, A heart-brain-kidney network controls adaptation to stress, Advances in Heart Failure King' s College London British Heart Foundation Centre of Research Excellence and The Journal of Clinical Investigation International Symposium, 2017 年
- ⑨ 眞鍋一郎, 心-脳-腎連携による恒常性維持と病態、第 60 回日本腎臓学会学術総会サテライトシンポジウム、2017 年

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

[Http://plaza.umin.ac.jp/manabe](http://plaza.umin.ac.jp/manabe)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：藤生 克仁

ローマ字氏名：(FUJIU, katsuhito)

所属研究機関名：東京大学

部局名：医学部附属病院

職名：特任准教授

研究者番号 (8 桁)：30422306

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：松本 佐保姫

ローマ字氏名：(MATSUMOTO, sahojime)

研究協力者氏名：荷見 映理子

ローマ字氏名：(HASUMI, eriko)

研究協力者氏名：小島 敏弥

ローマ字氏名：(KOJIMA, toshiya)

研究協力者氏名：中山 幸輝

ローマ字氏名：(NAKAYAMA, yukiteru)

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。