

令和元年5月21日現在

機関番号：34512

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H07282

研究課題名（和文）紫外線照射による心筋梗塞の予後改善作用の検討

研究課題名（英文）Investigation of the effect of ultraviolet B irradiation on cardiac remodeling and survival after myocardial infarction

研究代表者

溝口 泰司（Mizoguchi, Taiji）

神戸薬科大学・薬学部・研究員

研究者番号：40806882

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,800,000円

研究成果の概要（和文）：先進国において、心筋梗塞などの動脈硬化性疾患やそれに伴う心不全は重要な死亡原因である。これらの発症機序を解明し、有効な治療法を開発することが切に望まれている。動脈硬化や心不全などの病態進展において、慢性炎症の関与が示唆されている。制御性T細胞は、炎症性免疫応答を抑制することで心不全の進展抑制に寄与することが示されている。マウス心筋梗塞モデルを用いて、皮膚への紫外線B波の照射は、制御性T細胞の誘導に伴う心筋組織の炎症反応の抑制することで心筋梗塞後心不全の病態を改善させることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国での心筋梗塞や脳梗塞などの動脈硬化性疾患は、癌について死亡原因の第2位となっており、これらの発症機序を解明し、有効な治療法や予防法を開発することが切に望まれている。UVB照射は、皮膚疾患治療の病状の改善に有効な治療法として確立されている。近年、動脈硬化性疾患や心筋梗塞後の心不全に対する治療は医療経済を圧迫しているが、UVB照射による治療は経済的負担の少ない治療法と期待される。今後、病態改善の詳細な機序や、病態改善に効果的な波長や照射条件を明らかにすることにより、新規治療法としての臨床応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：Atherosclerotic cardiovascular disease and its related heart failure are major causes of mortality in developed countries. It is important to explore the pathophysiology and develop effective therapeutic approaches to preventing these diseases. Chronic inflammation is critically involved in the pathogenesis of atherosclerotic disease and heart failure. Regulatory T cells have been shown to play a protective role in the development of heart failure by regulating immunoinflammatory responses. Using a mouse model of myocardial infarction, we demonstrated that ultraviolet B irradiation to the skin could reduce the development and related mortality of heart failure after myocardial infarction, associated with systemic expansion of regulatory T cells and suppressed inflammation in the infarcted heart.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心筋梗塞 心不全 炎症・免疫反応 紫外線照射

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人口の高齢化に伴い心血管疾患の発症率は増加している。それに伴い増え続ける国民医療費は大きな社会問題となっており、日本の優れた医療保険システムの破綻につながる懸念されている。心筋梗塞は適切な薬物治療やカテーテル治療を行っても、後に心拡大（心筋リモデリング）や再発による心機能低下をきたして心不全を発症する例も多く、生命予後だけでなく、患者の生活の質（QOL）を著しく低下させる。心筋梗塞後の心機能低下を予防することは患者のQOLを改善させるだけでなく、健康寿命を延伸させることで介護費の削減にもつながるため、極めて重要である。

自己免疫疾患などの慢性炎症性疾患では、炎症を制御する制御性T細胞（Treg）が過剰な免疫応答を抑制し、その病態を改善させることが知られている。我々は、心血管疾患（動脈硬化症、大動脈瘤、心筋梗塞）の病態進展においても過剰な免疫応答が深く関与していることに注目し、Tregをその治療標的として研究してきた。そして、薬剤や抗体医薬を用いてTregを誘導することで心血管疾患を治療・予防できることを証明してきた。しかしその過程で、抗体医薬の臨床応用は、重篤な副作用だけでなく高額な医療費を要するため、極めて難しいことを認識した。一方で、皮膚への紫外線B波（UVB）照射は、Tregを増加させることで免疫応答を制御することが知られており、様々な皮膚疾患に安全かつ安価に臨床応用されている。我々はこれまでの技術や知識を生かし、マウスを用いて、UVB照射が全身のリンパ組織でTregを増加させることで動脈硬化および大動脈瘤の形成を予防することを世界で初めて証明した（*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 37:66-74, 2017, *J Am Heart Assoc.* 6:e007024, 2017）。この成果は、米国心臓協会の一流学術誌に掲載され、UVB照射は心血管疾患に対して簡便かつ安全で医療費のかからない新規治療法になりうると期待されることから Editorial にも選ばれ、それを用いた心血管疾患治療の開発は世界的に注目されるようになった。

心筋梗塞後の心筋リモデリングに過剰な炎症反応が関与し、免疫を制御するTregを誘導することで、病変部での炎症を制御し死亡率を低下させることが示されている（*Circ Res.* 115:55-67, 2014）。UVB照射により、Tregを誘導し心筋梗塞後の炎症を適切に制御することで、心筋リモデリングを抑制できる可能性がある。

2. 研究の目的

心筋梗塞後心不全の病態進展に対するUVB照射の抑制効果・機序を明らかにして、新規治療法・予防法の開発を目指す。

3. 研究の方法

8週齢雄の野生型マウスを用いて、左前下行枝を結紮し心筋梗塞モデルを作製した。予備実験の結果より、冠動脈結紮術2週間前より術直後まで、週に2回の比較的少ない線量（3 kJ/m²）のUVB照射を行うプロトコルに決定した。以下について検討を行った。

- ・UVB照射群と非照射群において心筋梗塞作製後の4週間における死亡率を比較した。
- ・心筋梗塞作製より4週間後に、心臓超音波を用いて心機能の評価を行った。
- ・心筋梗塞作製より4週間後に、心筋組織を摘出してホルマリン固定標本を作製し、心臓内腔のサイズを計測した。
- ・心筋梗塞作製より4日後に、フローサイトメトリーを用いてリンパ組織におけるTregを含めた免疫細胞の数や活性化状態の評価を行った。
- ・心筋梗塞作製より4日もしくは7日後に心筋病変部を摘出し、リアルタイムPCRを用いてTreg関連分子及び炎症関連分子の発現を評価した。
- ・ケモカインレセプターCCR4を高発現するTregの病態抑制への関与を明らかにするために、CCR4アンタゴニストの投与を行い、心筋梗塞後の予後や炎症・免疫応答への影響について検討した。
- ・紫色光で細胞を標識できる色変換蛍光タンパク質発現マウスのカエデマウスを用いて、UVB照射により皮膚で誘導されるTregの体内での細胞動態を評価した。

4. 研究成果

UVB照射群と非照射群にて心筋梗塞後の死亡率を比較して、UVB照射により心破裂や心不全発症による死亡が抑制されるかどうかについて検討を行ったが、UVB照射により有意な死亡率の低下を認め、特に心不全による死亡が減少した。心筋梗塞を作製した後に4週間後まで生存したマウスにおいて、心臓超音波による心機能の評価を行ったところ、UVB照射による心機能低下の抑制を認めた。また、心筋組織の組織学的検討では、UVB照射群では心臓内腔の拡大の抑制を認めた。

心筋梗塞後4日目にフローサイトメトリーを用いて免疫細胞への影響を評価したところ、UVB照射を行ったマウスの皮膚および心臓所属リンパ節においてTregの著明な増加を認め、特にケモカイン受容体CCR4を高発現するTregを増加させることを見出した。心筋梗塞病変部において、心筋梗塞後4日目にUVB照射群でTregに特異的な転写因子であるFoxp3の発現上昇を認め、心筋梗塞後7日目には抗炎症性のM2マクロファージに関連する分子の有意な発現上昇を認めた。ケモカイン受容体CCR4は、Tregの炎症部位への遊走に関与することが知られており、炎症部位においてTregはM2マクロファージの誘導に関与することが報告されている。梗塞心筋において、

CCR4 のリガンドである CCL17/CCL22 の有意な発現上昇を認め、UVB により誘導される Treg は CCR4-CCL17/22 依存性に障害心筋へ遊走し、M2 マクロファージの誘導を介して炎症を沈静化することで心不全の病態を改善させると予想された。

UVB 照射による心筋梗塞後の心不全発症抑制における CCR4 の役割を明らかにするために、同様の心筋梗塞モデルを用いて CCR4 アンタゴニストの腹腔内投与を行い検討した。CCR4 アンタゴニストを全身投与すると、UVB 照射による心不全関連死の抑制効果は消失し、M2 マクロファージの誘導効果は消失した。以上のことより、UVB 照射による病態改善の機序として、ケモカイン受容体 CCR4 を高発現する Treg の誘導の関与が示唆された。

UVB 照射により皮膚で誘導される Treg の病態抑制への関与を明らかにするために、紫色光の照射により細胞をラベリングできるカエデマウスを用いて検討を行った。UVB 照射を行ったマウスの皮膚所属リンパ節および脾臓において、ラベリングされた皮膚由来の Treg は、細胞数としては少ないものの増加する傾向を認め、UVB 照射により全身のリンパ組織への移動が促進されることが明らかになった。今後、このマウスを用いて心筋梗塞を作製し、UVB 照射により皮膚由来 Treg の心筋病変部への移動が促進されるかどうかを評価する予定である。

UVB 照射は、皮膚疾患治療の病状の改善に有効な治療法として確立されており、重篤な副作用は報告されていない。近年、動脈硬化性疾患や心筋梗塞後の心不全に対する治療は医療経済を圧迫しているが、UVB 照射による治療は経済的負担の少ない治療法と期待される。今後、病態改善の詳細な機序や、病態改善に効果的な UVB の波長や照射条件を明らかにすることにより、新規治療法としての臨床応用が期待される。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 佐々木直人、溝口泰司、福永淳、錦織千佳子、山下智也、平田健一、力武良行
紫外線照射は制御性 T 細胞の誘導を介して心筋梗塞の予後を改善させる
第 39 回日本光医学・光生物学会、2017 年
2. 佐々木直人、溝口泰司、Hilman Zulkifli Amin、力武良行、山下智也、平田健一
紫外線照射による心筋梗塞後の心不全抑制効果の検討
第 45 回日本臨床免疫学会総会、2017 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

神戸大学薬科大学 医療薬学研究室

https://www.kobepharma-u.ac.jp/edrs/faculty_member_list/medical_pharmaceutics.html

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：佐々木 直人

ローマ字氏名：SASAKI NAOTO

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。