

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K16021

研究課題名（和文）Inflammatory単球サブセットの動脈硬化との関連生

研究課題名（英文）Relationship between inflammatory monocyte and atherosclerosis

研究代表者

柏木 学 (Kashiwagi, Manabu)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：70453181

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：末梢血単球細胞は単一ではなく、多様性（炎症性単球と非炎症性単球の2つのサブセット）を有する。我々は、非炎症性単球の上昇が将来的な冠動脈疾患発症に関与することを明らかにした。一方で、炎症性単球とインターロイキン34の両者は急性心筋梗塞においてともに上昇し、心筋リモデリングや慢性期の心血管イベント発症に関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
ヒト末梢血単球サブセットの評価が、冠動脈疾患患者におけるリスク層別化に寄与することが示唆された。また炎症性単球とインターロイキン34の上昇は急性心筋梗塞後の心筋救済への関与も示唆されるため、さらなる機序検討により心筋壊死後に対する新規治療の礎となると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Monocytes in human peripheral blood are heterogeneous. Differential expression of CD14 and CD16 enables monocytes to be divided into two subsets: CD14+CD16- monocytes and CD14+CD16+ monocytes, called as “inflammatory” and “pro-inflammatory”. We proved that increasing of pro-inflammatory monocyte could predict future coronary artery event. In patients with acute myocardial infarction, both inflammatory monocyte and interleukin-34 increased and related with each other. In addition, those increasing were associated with myocardial remodeling and major adverse cardiovascular events.

研究分野：冠動脈疾患

キーワード：単球サブセット 急性心筋梗塞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ヒト末梢血単球は、冠動脈疾患や心筋梗塞発症後の左室のリモデリングに関与することが報告されている。末梢血単球は単一ではなく、多様性を有する（炎症性及び非炎症性単球の二つのサブセット）ことが明らかになっている。これまでに我々は、冠動脈疾患を有する患者において非炎症性単球が高値を示すこと、特に冠動脈プラークの不安定化やその重症度、治療との関連性について報告を行った。また急性冠症候群急性期においては、非炎症性単球において、Toll-like 受容体 4 や P-selectin glycoprotein ligand の発現が亢進していることを明らかにした。以上から非炎症性単球と冠動脈疾患進行には強い関連があると考えられている。しかしながら非炎症性単球と冠動脈疾患の慢性期予後との関連については不明である。

非炎症性単球が動脈硬化性の冠動脈疾患に関与するだけでなく、もう一つのサブセットである炎症性単球は急性心筋梗塞後における心筋の治癒過程やリモデリングに関与することが示唆されている。我々は急性心筋梗塞後患者において、冠動脈インターベンション後における心筋救済率と炎症性単球が逆相関を示した。炎症性単球が心筋サルベージに関与していると考えられているが、詳細なメカニズムについては不明である。近年、colony stimulating factor 1 receptor に対する alternative ligand である Interleukin 34 (IL-34) が、心筋梗塞後や心不全における心筋リモデリングに関与することが示唆されている。Ex-vivo の実験においては、IL-34 は単球の分化や誘導に関連すると報告されている。

### 2. 研究の目的

本研究の第一の目的は、非炎症性単球が冠動脈疾患に関与するか炎症性サイトカインを含め再検討を行い、特にこれまでに不明である慢性期予後に影響を及ぼすか検討することである。

また急性心筋梗塞急性期における炎症性単球の心筋救済への機序に関して、IL-34 との関連を中心に検討を行うことである。

### 3. 研究の方法

以前の先行研究において書面にて同意を得ることができた、安定狭心症もしくは無症候性心筋虚血を有する 271 名の患者を対象とした。末梢血においてフローサイトメトリーを用いて単球サブセットを測定した。単球サブセットは CD14 抗体、CD16 抗体を用いた 2 重染色より、CD14 と CD16 の発現様式の差異により 2 つのサブセット、すなわち CD14 陽性 CD16 陽性単球（炎症性単球）、CD14 陽性 CD16 陰性単球（非炎症性単球）に分類した。その他の炎症性マーカーとして、C-reactive protein (CRP)、Tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ )、Soluble fractalkine (s-fractalkine)、Interleukin 10 (IL-10) の測定も行った。冠動脈疾患の再発について検討を行った。

続いて、同様に先行研究において同意が得られた冠動脈疾患を有する患者を対象に IL-34 と単球サブセットについての検討を行った。安定狭心症が 53 名、不安定狭心症が 24 名、急性心筋梗塞は 64 名、コントロールとして 30 名の合計 171 名をエントリーした。上記と同様に単球サブセットの評価、IL-34 の測定を行い、各疾患群での検討を行った。

#### 4 . 研究成果

冠動脈疾患と診断された 271 名の患者において、125 名において冠動脈インターベンションや冠動脈バイパス術が行われ（血行再建群）136 名では薬物療法が選択された。平均 4.7 年の追跡調査において、15 名の患者で冠動脈疾患の再発を認めた。内訳は、6 名が急性冠症候群、9 名が安定狭心症であった。薬物療法が選択された患者群では血行再建群と比べ非炎症性単球サブセットの割合が低かったが、薬物療法が選択されたが冠動脈疾患が再発した患者群では血行再建群と同等に非炎症性単球を高値で認めた。ROC 曲線からは非炎症性単球比率 19.2%以上が冠動脈イベントの予測値であり、19.2%以上の高値群で低値群に比べ有意に冠動脈イベント発症を認めた。炎症性サイトカインにおいては TNF- $\alpha$  のみ有意な関連を示した。以上から非炎症性単球と冠動脈疾患予後の関連が示唆された。

Kashiwagi M, Imanishi T, Ozaki Yu, Taruya A, Nishiguchi T, Katayama Y, Tanimoto T, Kuroi A, Kubo T, Tanaka A, Akasaka T. Prognostic Value of Human Peripheral Monocyte Subsets for Future Coronary Events in Patients without Significant Coronary Artery Disease. *Circ J.* 2019;83:2250-2256.

続いて行われた検討においては、急性心筋梗塞患者において、安定狭心症、不安定狭心症やコントロール群と比べて有意に炎症性単球ならびに血清 IL-34 値の上昇を認めた。炎症性単球と IL-34 の関連については急性心筋梗塞患者グループにおいてのみ正の相関を認めた。上記に加え血清 IL-34 値が上昇しているグループでは低下しているグループに比べ、慢性期に有意に心血管イベントの発生を認めた。上記に加えて、血清 IL-34 値は急性期の左室駆出率には関係しないが、慢性期の左室駆出率改善と逆相関を示した。以上から IL-34 は単球サブセットとともに、急性心筋梗塞後の心筋救済過程に関与することが示唆された。

Kashiwagi M, Ozaki Y, Imanishi T, Taruya A, Kuroi A, Katayama Y, Shimamura K, Shiono Y, Tanimoto T, Kubo T, Tanaka A, Akasaka T. Interleukin-34 levels are increased in acute myocardial infarction and associated with major adverse cardiovascular events. *Coron Artery Dis.* 2021 *in press.*

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Prognostic Value of Human Peripheral Monocyte Subsets for Future Coronary Events in Patients Without Significant Coronary Artery Stenosis	4. 巻 83
2. 論文標題 Manabu Kashiwagi	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 2250-2256
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/circj.CJ-19-0520	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Manabu Kashiwagi	4. 巻 60
2. 論文標題 Combination of Lesion Stenosis and Myocardial Supply Area Assessed by Coronary Computed Tomography Angiography for Prediction of Myocardial Ischemia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Heart Journal	6. 最初と最後の頁 1238-1244
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1536/ihj.19-141	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Manabu Kashiwagi	4. 巻 N/A
2. 論文標題 Interleukin-34 levels are increased in acute myocardial infarction and associated with major adverse cardiovascular events	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Coronary Artery Disease	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/MCA.0000000000001046.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 柏木学
2. 発表標題 ヒト末梢血単球サブセットと冠動脈イベントの関連性の検討
3. 学会等名 第66回日本心臓病学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------