

令和 3 年 5 月 15 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15112

研究課題名（和文）急性心筋梗塞後の心不全の発症・進展におけるIL-21の作用メカニズムの解明

研究課題名（英文）The effects of IL-21 on heart failure after acute myocardial infarction

研究代表者

久保田 暁彦（Kubota, Akihiko）

千葉大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：60785575

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：急性心筋梗塞後の心不全の発症・進展におけるIL-21の役割に着目し、(1)IL-21受容体がM2マクロファージ(M2)に高発現していること、(2)CD4+T細胞がIL-21を産生すること、(3)IL-21欠損マウスは心筋梗塞後の生存率が高く、心機能低下が起こりにくいこと、(4)IL-21欠損マウスは梗塞領域の組織修復が早く誘導されること、(5)IL-21欠損マウスではM2の数が増加すること、(6)IL-21によりM2のアポトーシスが誘導されること、(7)野生型マウスにおいて、IL-21中和抗体投与群は、非投与群に比べ、心筋梗塞後の生存率が高く、心機能低下が起こりにくいこと、を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性心筋梗塞後にCD4+T細胞が活性化すると、炎症を引き起こすM1マクロファージ(M1)が減少し、組織修復を促進させるM2が増加することが知られているが、活性化されたCD4+T細胞が如何にしてM1/M2バランスを制御するのかは未だ明らかとなっていない。本研究ではCD4+T細胞とM2を結ぶ分子の一つとしてIL-21を特定し、急性心筋梗塞後の心不全発症・進展におけるIL-21の役割及びその作用メカニズムを解明し、心筋梗塞後の炎症と組織修復に関する新しい知見を得ることができた。また、IL-21中和による生存率、心機能の改善を確認でき、心筋梗塞後の心不全に対する新たな治療法の可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：We focused on the role of interleukin (IL)-21 in post-myocardial infarction (MI) hearts, and found that (1) IL-21 receptor is highly expressed in M2 macrophages (M2), (2) CD4+ T cells produces IL-21, (3) IL-21-deficient mice have a high survival rate after MI, (4) IL-21-deficient mice have faster tissue repair in the infarcted area, (5) the number of M2 in IL-21-deficient mice was increased, (6) IL-21 induces M2 apoptosis, and (7) in wild-type mice, neutralization of IL-21 increases survival rate after MI.

研究分野：循環器内科学

キーワード：IL-21 急性心筋梗塞 炎症 創傷治癒 CD4陽性T細胞 マクロファージ

## 1. 研究開始当初の背景

- (1) 急性心筋梗塞後の心臓組織には、好中球、単球、リンパ球等の白血球が浸潤し、壊死組織の除去を行うと共に、種々の液性因子を放出し、筋線維芽細胞の分化・増殖を誘導することで心臓組織を癒痕化することが知られていた。そして、心筋梗塞モデルマウスを用いた研究では、各種炎症細胞の制御により、心筋梗塞領域の組織修復を促進し、心拡大を防ぎ、予後を改善できる可能性が示されていた。
- (2) 本研究者は急性心筋梗塞後に CD4 陽性 T 細胞(CD4<sup>+</sup>T 細胞)が活性化すると、炎症を引き起こす M1 マクロファージ(M1)が減少し、組織修復を促進させる M2 マクロファージ(M2)が増加すること、M2 は Matrix metalloproteinase (MMP)-12 を分泌し、組織破壊を引き起こす好中球の浸潤を抑制し、心不全の発症・進展を抑制することを明らかにしていた。
- (3) しかし、活性化された CD4<sup>+</sup>T 細胞が如何にして M1/M2 バランスを制御しているのかは未だ明らかとなっていない。
- (4) 本研究者は梗塞後の心臓に浸潤する M1 及び M2 に発現する遺伝子を網羅的に解析した予備実験から、M1 に比較して M2 で IL-21 受容体の発現が有意に亢進していることを見出し、IL-21 に着目することとした。

## 2. 研究の目的

急性心筋梗塞後の心不全の発症・進展における IL-21 の作用メカニズムを明らかにし、IL-21 を標的とした新規心不全治療薬開発のための基盤を構築することを目的とした。

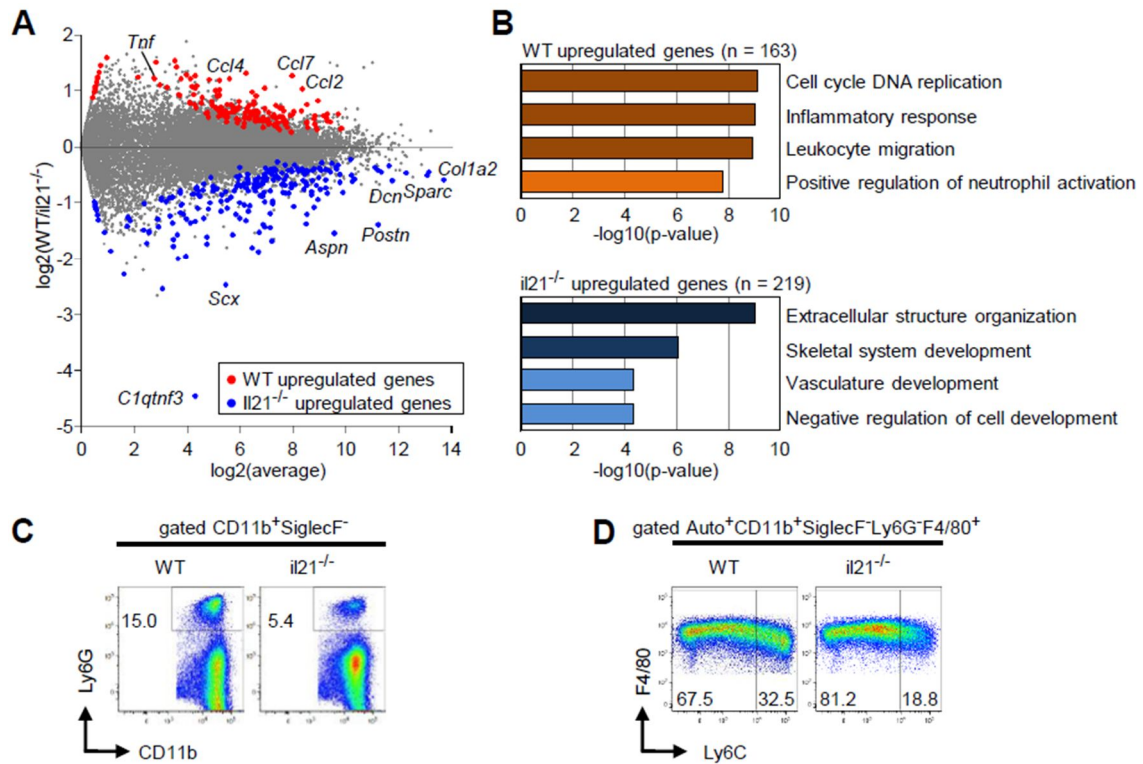
## 3. 研究の方法

野生型マウス(WT)、IL-21 欠損マウス(*il21<sup>-/-</sup>*)、及び IL-21 受容体欠損マウス(*il21r<sup>-/-</sup>*)に心筋梗塞を作成し、生存率、心エコーを用いた心機能評価、病理学的解析、各々の梗塞組織における遺伝子発現、MMP 活性の測定、炎症細胞浸潤を解析すると共に、WT において、IL-21 中和抗体投与時の生存率、心機能評価を行った。

## 4. 研究成果

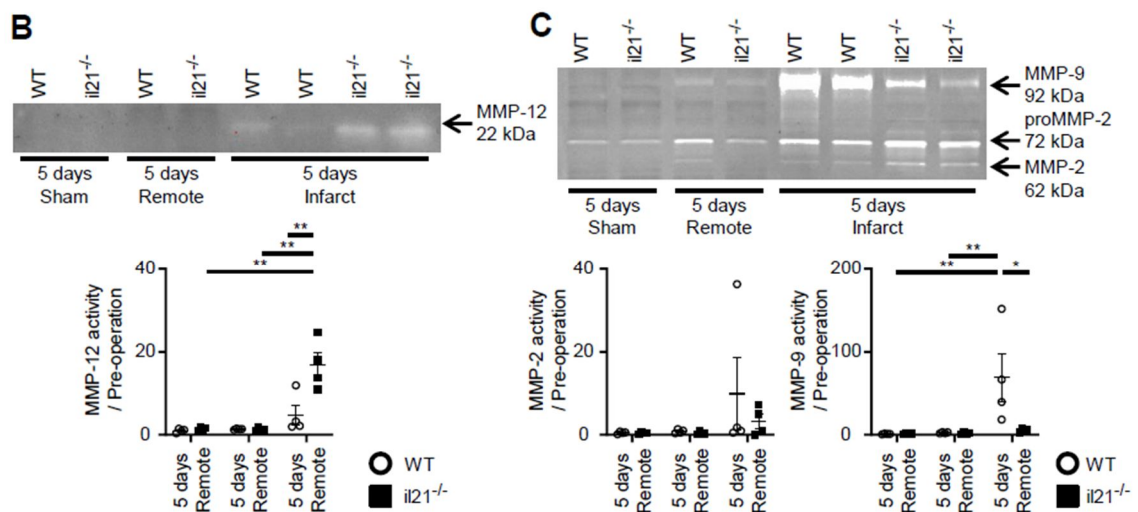
- (1) 梗塞組織における IL-21 産生細胞と IL-21 シグナルを受け取る細胞の同定  
セルソーターを用いて梗塞組織から M1, M2, 好中球、繊維芽細胞、内皮細胞を回収し、qPCR を用いて IL-21 受容体発現を測定したところ、有意に M2 で IL-21 受容体発現が上昇していることがわかった。また、FACS を用いた解析から M1, M2 ともに IL-21 受容体を発現していることが蛋白レベルで確認できた。さらに、梗塞組織から回収した CD4<sup>+</sup>T 細胞を PMA、ionomycin で刺激後に FACS を用いて解析したところ、CD4<sup>+</sup>T 細胞が IL-21 を産生することが明らかとなった。
- (2) IL-21 欠損は心筋梗塞後の生存率を改善させ、心拡大を防ぐ  
WT 及び *il21<sup>-/-</sup>* に心筋梗塞を作成し、1 か月の生存を観察したところ、*il21<sup>-/-</sup>* は有意に生存率が改善することがわかった。また、心エコーによる心機能の解析では、*il21<sup>-/-</sup>* は有意に心拡大が抑えられ、心機能が改善していることがわかった。
- (3) IL-21 欠損は心筋梗塞領域において、炎症が一早く収束し、創傷治癒が促進される  
WT 及び *il21<sup>-/-</sup>* の心筋梗塞領域から採取した mRNA を用いて、RNA-sequencing 解析を行ったところ、WT では各種のケモカインが上昇しているのに対し、*il21<sup>-/-</sup>* では、コラーゲン産生に關与する遺伝子の発現が上昇していることがわかった。その結果と一致して、心筋梗塞 5 日後において、*il21<sup>-/-</sup>* は WT に比べて、好中球数が減少し、創

傷治癒を促す M2 の数が増加していることがわかった。また、病理学的な解析では、 $il21^{-/-}$  は WT に比べて、梗塞領域におけるコラーゲン繊維の沈着が増加していることもわかった。



(4) IL-21 欠損は梗塞領域における創傷治癒を促進させる

さらに、我々は梗塞領域における MMP の発現について解析した。 $il21^{-/-}$  は WT に比べて、コラーゲン繊維を破壊する MMP-9 の遺伝子発現/酵素活性が低下していること、MMP-9 の主産生細胞である好中球の流入を抑える MMP-12 の遺伝子発現/酵素活性が上昇していることがわかった。そして、 $il21^{-/-}$  は WT に比べて、コラーゲン繊維を産生する筋繊維芽細胞が梗塞領域に多く存在していることも明らかとなった。

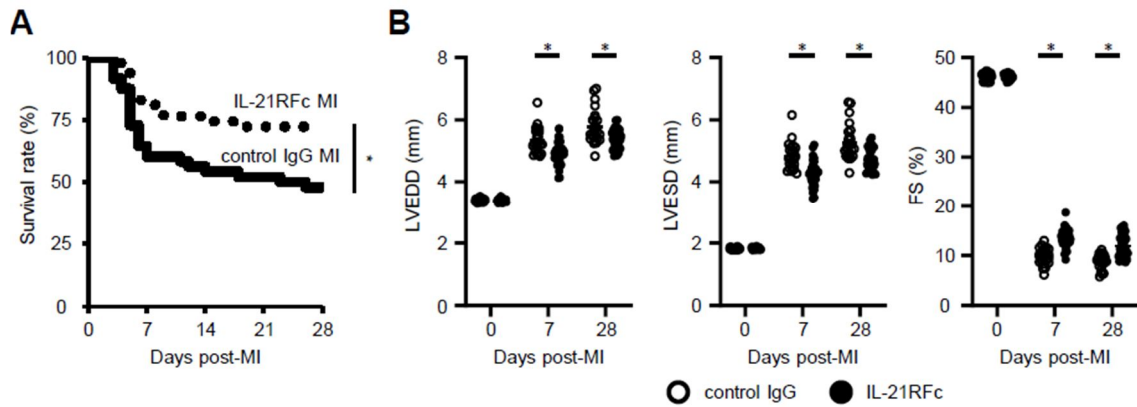


(5) IL-21 は M2 のアポトーシスを誘導する

IL-21 が M2 の数を制御するメカニズムとして、我々は M2 マクロファージのアポトーシスに関して検討した。その結果、IL-21 は *Bcl2l11* を誘導することにより、M2 マクロファージのアポトーシスを誘導する可能性が示唆された。

(6) IL-21 中和抗体の特与は M2 を増やし、心筋梗塞後の生存率を改善する

最後に、IL-21 を中和する可溶化 IL-21 受容体-Fc キメラ蛋白(sIL-21R-Fc)を心筋梗塞作成後の WT に特与し、急性心筋梗塞後の生存率、心機能を解析した。sIL-21R-Fc 特与群は Control IgG 特与群に比べ、生存率、心機能共に改善した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Akihiko Kubota, Akira Suto, Kensuke Suga, Arifumi Iwata, Shigeru Tanaka, Kotaro Suzuki, Yoshio Kobayashi, Hiroshi Nakajima
2. 発表標題 Inhibition of interleukin-21 improves left ventricular remodeling and survival after myocardial infarction
3. 学会等名 第37回ISHR日本部会総会
4. 発表年 2021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
---------	---------