

令和 4 年 8 月 31 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08523

研究課題名(和文) クローン性造血に着目した心不全に対する新しい治療戦略

研究課題名(英文) Monoclonal hematopoiesis in heart failure

研究代表者

竹石 恭知 (Takeishi, Yasuchika)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：40272067

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：クローン性造血は加齢と心血管疾患を繋ぐ現象として注目を集めている。血液疾患を認めない肺高血圧症患者の約7%にJAK2V617Fクローン性造血を確認した。低酸素暴露による肺高血圧症マウスモデルでは、JAK2V617Fクローンは肺動脈リモデリングと肺高血圧症を増悪させた。JAK2V617Fは骨髄造血幹細胞から肺好中球へ分化するに従って、ACVRL1(ALK1)の発現を増加させ、ALK1阻害は肺高血圧症の増悪を改善した。ALK1阻害薬はJAK2変異クローン性造血を有する肺高血圧症に有効な治療戦略となる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢に伴って造血幹細胞に突然変異が生じると、単クローンに由来する血液細胞の増殖が末梢血中に観察される。これは加齢と心血管疾患を結ぶ現象として注目される。ALK1阻害薬がJAK2変異クローン性造血を有する肺高血圧症に有効な治療戦略となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Clonal hematopoiesis is a risk factor for cardiovascular diseases. We identified JAK2V617F-positive clonal hematopoiesis in patients with pulmonary hypertension. JAK2V617F exacerbated hypoxia-induced pulmonary hypertension and pulmonary arterial remodeling in mice. JAK2V617F progressively upregulated Acvrl1 (encoding ALK1) during the differentiation from bone marrow stem/progenitor cells into mature lung neutrophils, and the ALK1 inhibition blocked the development of pulmonary hypertension. Clonal hematopoiesis with JAK2V617F may be a novel therapeutic target for pulmonary hypertension.

研究分野：循環器内科学

キーワード：clonal hematopoiesis JAK2V617F pulmonary hypertension ACVRL1 ALK1

1. 研究開始当初の背景

次世代シーケンサーによる遺伝子解析技術の進歩により、骨髄増殖性疾患で認められる遺伝子変異が65歳以上の健常な高齢者で約10%と高頻度に認められ、クローン性造血の存在が明らかになった。クローン性造血に関わる遺伝子変異として、エピジェネティクス関連遺伝子のほか、JAK2 遺伝子変異が報告されている。クローン性造血が心血管疾患のリスク因子であることが報告されたが、日本人の心血管疾患において JAK2V617F 変異を有する頻度は不明であり、また JAK2V617F 変異が心血管疾患の病態にどのように関与するかは解明されていない。

2. 研究の目的

心血管疾患患者において、JAK2V617F 変異を有する頻度および各疾患の臨床病態との関連性について明らかにするとともに、JAK2V617F 変異骨髄由来細胞が心血管疾患の病態にどのように関与しているのかを解明する。

3. 研究の方法

本学附属病院に入院・外来通院している心血管疾患症例で、末梢血白血球から DNA を抽出し、アリル特異的リアルタイム PCR 法により、JAK2V617F 変異の有無およびアレルバーデン値を解析した。

JAK2V617F 変異トランスジェニックマウスをドナーとして用いる骨髄移植により、クローン性造血のマウスモデルを作成した。レシピエントである野生型 C57BL/6 マウスに 9Gy の X 線照射を行い骨髄機能を破壊し、JAK2V617F マウスから採取した骨髄液を尾静脈から投与し骨髄移植を行った。コントロールとして野生型 littermate (WT) マウスの骨髄をレシピエントマウスに移植した。移植 4 週後と 8 週後にレシピエントマウスの血液を採取しフローサイトメトリー法、リアルタイム PCR 法により JAK2V617F 変異細胞の生着率を評価した。

JAK2V617F 変異骨髄細胞が大動脈瘤形成に与える意義を明らかにするため、JAK2V617F マウスの骨髄細胞を ApoE ノックアウトマウスに移植した (JAK2V617F-BMT マウス)。JAK2V617F-BMT マウスにアンジオテンシン II を持続投与し、大動脈瘤モデルを作成した。WT マウスの骨髄を移植したレシピエントをコントロールとした。

また、JAK2V617F クローン性造血の肺高血圧症の発症と進展における役割を解明するため、JAK2V617F マウスの骨髄を WT マウスに移植し、10%の低酸素に 3 週間暴露した。WT マウスの骨髄を移植したレシピエントをコントロールとした。

4. 研究成果

骨髄増殖性疾患の原因遺伝子変異 (JAK2V617F、CALRdeI52、CALRins5、MPLW515L、MPLW515K) の心血管疾患における有病率を明らかにするため、造血器腫瘍の既往のない 1832 名の心血管疾患患者を対象として検討を行った。平均年齢は 67.8 歳、女性は 31.6% であった。アリル特異的リアルタイム PCR 法にて末梢血の JAK2V617F 変異、CALRdeI52 変異、CALRins5 変異、MPLW515L 変異、MPLW515K 変異の有無を解析した。16 名 (1.9%) に遺伝子変異を認め、その内訳は JAK2V617F 変異が 15 名 (1.8%)、CALRdeI52 変異が 1 名 (0.1%) であった。他 3 種の遺伝子変異は認めなかった。JAK2V617F 変異のアレルバーデン値の平均値は 0.445% で、CALRdeI52 変異のアレルバーデン値は

0.25%であった。次いで、肺高血圧症患者において、JAK2V617F変異の有無を検討した。血液疾患を認めない場合でも、肺高血圧症患者の約7%にJAK2V617Fクローン性造血が認められ、これは健康対照群と比べて有意に頻度が高いことを明らかにした。

JAK2V617F変異トランスジェニックマウスの骨髄細胞をApoEノックアウトマウスに骨髄移植した(JAK2V617F-BMTマウス)。JAK2V617F-BMTマウスにアンジオテンシンIIを持続投与したところ、対照群と比較して腹部大動脈瘤の発症が有意に増加した。JAK2V617F-BMTマウスの大動脈組織では血管壁の弾性線維の破綻が認められ、ゼラチンザイモグラフィではマトリックスメタロプロテナーゼ(MMP)2とMMP9活性が有意に増加、免疫染色では浸潤したCD68陽性マクロファージの増加を認めた。さらに、JAK2V617Fマウスの骨髄細胞をGM-CSFによりマクロファージに分化培養したところ、Mmp2、Mmp9の遺伝子発現が増加していた。また、JAK2阻害薬RuxolitinibをJAK2V617F-BMTマウスに投与したところ、アンジオテンシンIIによる腹部大動脈瘤の発症が減少した。これらの結果から、JAK2V617F変異骨髄細胞は、大動脈組織に浸潤した骨髄由来マクロファージとMMP2、MMP9を介して大動脈瘤形成を促進させることを示した。

低酸素暴露による肺高血圧症のマウスモデルでの検討では、JAK2V617Fクローンは肺動脈周囲の好中球数を増加させ、好中球由来のエラスターゼ活性やケモカイン増加を介して、肺動脈リモデリングと肺高血圧症を増悪させた。JAK2V617Fは骨髄造血幹細胞から肺好中球へと末梢レベルに分化するに従って、ACVRL1(ALK1)の発現を増加させた。そしてALK1の阻害は浸潤した肺JAK2V617F好中球数および亢進した好中球機能を抑制し、肺高血圧症の増悪を改善した。以上の結果より、ALK1阻害薬がJAK2変異クローン性造血を有する肺高血圧症に有効な治療戦略となる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kimishima Y, Misaka T, Yokokawa T, Wada K, Ueda K, Sugimoto K, Minakawa K, Nakazato K, Ishida T, Oshima M, Koide S, Shide K, Shimoda K, Iwama A, Ikeda K, Takeishi Y.	4. 巻 12
2. 論文標題 Clonal hematopoiesis with JAK2V617F promotes pulmonary hypertension with ALK1 upregulation in lung neutrophils.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 6177
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-26435-0.	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 Yokokawa T, Misaka T, Kimishima Y, Wada K, Minakawa K, Sugimoto K, Ishida T, Morishita S, Komatsu N, Ikeda K, Takeishi Y.	4. 巻 106
2. 論文標題 Crucial role of hematopoietic JAK2V617F in the development of aortic aneurysms.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Haematologica	6. 最初と最後の頁 1910-1922
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3324/haematol.2020.264085.	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 Yokokawa T, Misaka T, Kimishima Y, Wada K, Minakawa K, Kaneshiro T, Yoshihisa A, Ikeda K, Takeishi Y.	4. 巻 3
2. 論文標題 Clonal hematopoiesis and JAK2V617F mutations in patients with cardiovascular disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JACC: CardioOncology	6. 最初と最後の頁 134-136
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jacc.2021.01.001.	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 Minakawa K, Yokokawa T, Ueda K, Nakajima O, Misaka T, Kimishima Y, Wada K, Tomita Y, Miura S, Sato Y, Mimura K, Sugimoto K, Nakazato K, Nollet KE, Ogawa K, Ikezoe T, Hashimoto Y, Takeishi Y, Ikeda K.	4. 巻 14
2. 論文標題 Myeloproliferative neoplasm-driving Calr frameshift promotes the development of pulmonary hypertension in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Hematology and Oncology	6. 最初と最後の頁 52
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13045-021-01064-8.	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Wada K, Misaka T, Yokokawa T, Kimishima Y, Minakawa K, Kaneshiro T, Yoshihisa A, Ikeda K, Takeishi Y.
2. 発表標題 Clinical significance of clonal hematopoiesis with JAK2V617F in patients with cardiovascular diseases.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Session (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kimishima Y, Misaka T, Yokokawa T, Wada K, Ueda K, Sugimoto K, Minakawa K, Nakazato K, Ishida T, Oshima M, Koide S, Shide K, Shimoda K, Iwama A, Ikeda K, Takeishi Y.
2. 発表標題 Clonal hematopoiesis with JAK2V617F promotes pulmonary hypertension through ALK1.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Session (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yokokawa T, Misaka T, Kimishima Y, Wada K, Minakawa K, Sugimoto K, Ishida T, Ikeda K, Takeishi Y.
2. 発表標題 Crucial role of Jak2V617f-positive myeloproliferative neoplasm in the development of aortic aneurysm.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Session (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kimishima Y, Misaka T, Yokokawa T, Sugimoto K, Minakawa K, Ishida T, Ikeda K, Takeishi Y
2. 発表標題 Janus activating kinase 2 V617F mutation promotes hypoxia induced pulmonary hypertension in mice.
3. 学会等名 Scientific Sessions of American Heart Association (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yokokawa T, Misaka T, Kimishima Y, Minakawa K, Sugimoto K, Nakazato K, Ikeda K, Takeishi Y.
2. 発表標題 Hematopoietic calr frameshift mutation exacerbates hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Session (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kimishima Y, Misaka T, Yokokawa T, Wada K, Sugimoto K, Minakawa K, Ikeda K, Nakazato K, Takeishi Y.
2. 発表標題 Small hematopoietic clones with jak2v617f causally lead to pulmonary hypertension through neutrophil selective migration and maturation from the precursors in the lungs.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Session (国際学会)
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
研究分担者	三阪 智史 (Misaka Tomofumi) (50793080)	福島県立医科大学・医学部・助教 (21601)	
研究分担者	横川 哲朗 (Yokokawa Tetsuro) (80748773)	福島県立医科大学・医学部・助教 (21601)	
研究分担者	池田 和彦 (Ikeda Kazuhiko) (90381392)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	

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
---------	---------