

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09267

研究課題名(和文) 免疫チェックポイント機構による心不全の病態制御機構の解明

研究課題名(英文) Regulation of Heart Failure Pathophysiology by Immune Checkpoint Mechanisms

研究代表者

河村 愛 (Kawamura, Ai)

大阪大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10838923

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：左室補助人工心臓を装着し左室をunloadした患者の心筋組織検体において、PD-L1の発現亢進を認めた。組織中のPD-L1の発現量はaPKC / c-Mycの発現量、左室駆出率と正の相関を示し、左室拡張末期径、左室収縮末期径と負の相関を示した。また接地培養した細胞をストレッチチャンバーで進展・解除するin vitroモデルでも、unload後のヒト臍帯血由来血管内皮細胞においてPD-L1/aPKC / c-Mycの発現亢進を認めた。左室のunloadによりaPKC / c-Myc発現が亢進し、血管内皮細胞においてPD-L1の発現が亢進し、左室のリモデリングに寄与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性心不全の病態における免疫チェックポイント機構の果たす役割についてはほとんど研究がなされていない。PD-L1による心不全の病態制御機構が明らかとなれば、新たな視点から重症心不全の治療戦略を開発することも可能であり、学術的・社会的意義は大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In myocardial tissue samples extracted from patients with left ventricle unloading by a left ventricular assist device, increased expression of PD-L1 was observed. The expression level of PD-L1 was positively correlated with the expression level of aPKC / c-Myc and left ventricular ejection fraction, and negatively correlated with left ventricular end-diastolic diameter and left ventricular end-systolic diameter. Increased expression of PD-L1 / aPKC / c-Myc was also observed in human umbilical cord blood-derived vascular endothelial cells after unloading with an in vitro model, in which grounded cultured cells are expanded and unloaded in a stretch chamber.

These results suggest that aPKC / c-Myc / PD-L1 expression are upregulated in vascular endothelial cells by left ventricular unloading, which may contribute to left ventricular remodeling.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：重症心不全 左室補助人工心臓 左室unloading 免疫チェックポイント機構

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会に伴い心不全患者数は増加の一途を辿っており、心不全は日本の死亡原因の第2位を占めている。心不全治療には内科的薬物療法や外科的治療など様々な方法が含まれ、近年の心不全治療の進歩により心不全患者の予後は飛躍的に改善したが、それでもなお現行の治療では病状が改善しない重症心不全患者も存在する。そのような患者においては心臓移植が唯一の治療となるが、ドナー数の不足に起因する様々な制約があり、普遍的に行える治療ではないという問題がある。

左室補助人工心臓 (LVAD) は、重症心不全患者が心臓移植に到達するまでの間、臓器不全をきたすことなく安全に待機できることを目的として開発されたが、その後の研究により、LVAD 装着により左室内の圧負荷および容量負荷を軽減 (unload) することが左室機能の回復につながるという結果が得られ、実際に LVAD を離脱できる症例も存在することが報告された (J Am Coll Cardiol. 2016;68(14):1540-53)。LVAD 装着により心機能の回復が得られる詳細なメカニズムについては、左室の unload により MAPK を介した転写因子活性が亢進し心筋細胞の肥大化の改善に関与することや、IGF-1、SDF-1 などの発現が幹細胞を動員し心筋細胞のアポトーシス抑制に働くことなどが報告されているが (Cardiovasc Res. 2005;68(3):376-86)、未だ不明な点も多く存在する。

一方、免疫チェックポイント分子の PD-1 は、そのリガンドである PD-L1/PD-L2 と結合することにより抑制性共刺激を伝達し、T 細胞をはじめとする免疫細胞の活性化を抑制することにより、自己に対する免疫寛容を確立し、自己免疫応答による臓器障害を抑え、免疫応答の恒常性を維持する働きをしている (Nat Immunol. 2007;8(3):239-45)。癌細胞がこの機構を利用して抗腫瘍免疫応答を回避していることが明らかとなってから、免疫チェックポイント阻害薬は癌の新たな治療薬として大変注目されているが、心不全領域においては、免疫チェックポイント機構による病態制御機構はほとんど研究がなされていない。

### 2. 研究の目的

本研究では PD-1/PD-L1 経路による心不全の病態制御機構を明らかにし、新たな視点から重症心不全の治療戦略を開発することを目的とする。

### 3. 研究の方法

LVAD 装着術前後の患者の心臓組織における PD-L1 の発現の解析 (免疫染色法、RT-PCR 法など) を行い、術前後の心機能の改善等の臨床データとの相関について検討した。また心臓組織検体において、PD-L1 が主にどの細胞に発現しているのかを検討した。また、マウスの圧負荷心不全モデル (大動脈縮窄モデル) を作成し、採取した心臓組織を構成細胞ごとに分け、PD-L1 の発現を RT-PCR、western blotting 法などで検出することを計画した。さらに PD-L1 の発現を調節する因子として aPCK /c-Myc および IFN- 等の発現を同様に検討した。

#### 4 . 研究成果

過去に重症心不全の治療のために左室補助人工心臓を装着し左室を unload した患者 23 名の術前術後の心臓組織検体を用いて、心臓組織内における PD-1/PD-L1 の発現を、免疫染色法を用いて検討した。結果、左室 unload 後の心筋組織内において、unload 前と比較して PD-L1 の発現亢進を認めた。組織切片から RNA を抽出し RT-PCR 法を用いた解析を施行したところ、同様の結果であった。また組織中の PD-L1 の発現量は aPKC /c-Myc の発現量、左室駆出率と正の相関を示し、左室拡張末期径、左室収縮末期径と負の相関を示した。

さらにマウス心筋細胞、線維芽細胞、ヒト臍帯血由来血管内皮細胞を接地培養後ストレッチャーで進展させ、その後解除する事による in vitro unloading モデルを作成し PD-L1 の発現及び aPKC /c-Myc 等の発現の変化を解析したところ、unload 後のヒト臍帯血由来血管内皮細胞において、PD-L1/aPKC /c-My/IFN- の発現亢進を認めた。

またマウスを大動脈弁を絹糸で結紮することで大動脈縮窄症を作成し、圧負荷心不全モデルの作成を試みたが、モデルの作成が安定せず、in vivo モデルにおける検討はできなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	河村 拓史  (Kawamura Takuji)  (60839398)	大阪大学・医学系研究科・助教   (14401)	
研究分担者	秦 広樹  (Hata Hiroki)  (80638198)	大阪大学・医学系研究科・特任准教授(常勤)   (14401)	削除：2020年2月26日

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