

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18171

研究課題名(和文) 大動脈弁石灰化進行の分子生物学的メカニズムに着眼した大動脈弁狭窄抑制薬の開発

研究課題名(英文) Inflammatory and immune checkpoint markers are associated with the calcification of aortic valve

研究代表者

立石 渉 (Tatsuishi, Wataru)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50722378

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)：大動脈弁石灰化を制御するシステムを解明することを目的として、ヒト大動脈弁組織において、免疫組織化学的分析を行った。

石灰化大動脈弁にて有意にPD-L1タンパクが発現しPD-L1の発現はCD8陽性Tリンパ球とCD163陽性マクロファージの浸潤と相関がみられた。大動脈弁狭窄症の重症度が高く、石灰化が強い組織においては、FOXP3陽性Tregの浸潤度は低く、CD8陽性Tリンパ球、CD163陽性マクロファージの浸潤度が高かった。弁の石灰化が存在すると免疫細胞浸潤と免疫チェックポイントタンパクの発現も強くなっていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大動脈弁狭窄症において、大動脈弁の石灰化が存在する部位には免疫細胞浸潤と免疫チェックポイントタンパクの発現も強くなっていたという結果が得られた。このことから、大動脈弁石灰化に免疫チェックポイントタンパクが影響している可能性が示唆された。この制御因子を解明することで、今後の大動脈弁狭窄進行を抑制・治療することができる新たな薬剤が開発される可能性が見いだせた。

研究成果の概要(英文)：In relation to Aortic stenosis, the purpose of this study was to elucidate the relationships among factors such as expression of programmed cell death-1 ligand (PD-L1), clinicopathologic characteristics, infiltrating immune cells, and disease severity. PD-L1 expression in resected AVs was significantly associated with being nonsmoker, valve calcification, and the infiltration of CD8-positive T cells and CD163-positive macrophages. Disease severity and valve calcification were significantly associated with low infiltration of FOXP3-positive Tregs and high infiltration of CD8-positive T cells and CD163-positive macrophages. Moreover, calcified AVs with high PD-L1 expression showed active inflammation without FOXP3-positive Tregs but with high levels of CD8-positive T lymphocytes and CD163-positive macrophages. Immune cell infiltration in the AVs and expression of the immune checkpoint protein PD-L1 were associated with the calcification of AS and disease severity.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：PD-1/PD-L1タンパク 免疫チェックポイントタンパク 大動脈弁石灰化

## 1. 研究開始当初の背景

大動脈弁狭窄症の治療方法として、手術以外に予防・進行を抑制し、より低侵襲に実施可能な手法が開発されることが現在求められている。

近年では、大動脈弁の石灰化は高齢で起こるカルシウム沈着の単純な受動的プロセスとは考えられておらず、血流ストレスや、LDL やマクロファージや T 細胞による組織障害や炎症などの影響に加え、骨芽細胞/破骨細胞が大動脈弁を含む大血管の石灰化に寄与すると考えられている (Eur Cardiol. 2015;10:108-112. )。これらの知見から、AS の発症・進行には T 細胞がマクロファージ系細胞、骨芽細胞/破骨細胞の関与が強く示唆されるが、それらの細胞がどのようなシグナルにより制御されているかはこれまで明らかとなっていない。

## 2. 研究の目的

AS の治療方法として、手術以外に予防・進行を抑制し、より低侵襲に実施可能な手法が開発されることが現在求められている。本研究の目的は「AS を引き起こす大動脈弁組織石灰化の発生・進行に寄与する T 細胞、単球/マクロファージ、骨芽細胞/破骨細胞の制御メカニズムを分子生物学的に解明し、AS の予防、治療法を可能にする治療標的分子を明らかにすること」を目的とし、ヒト大動脈弁組織において、石灰化の程度と細胞傷害性 T 細胞・単球/マクロファージ・制御性 T 細胞・近年癌領域注目されている免疫チェックポイントシグナル programmed cell death-1 ligand (PD-L1) タンパク発現の程度について検討した。

## 3. 研究の方法

2010年から2017年に当科で大動脈弁狭窄症の診断で弁置換施行した症例のうち、病理標本が使用可能であった53例を対象とした。平均年齢73(56-87)歳、男性25人。ヒト大動脈弁組織に対して免疫組織化学的分析を行い、PD-L1発現と大動脈弁狭窄症の重症度、CD8陽性Tリンパ球、CD163陽性マクロファージ、FOXP3陽性制御性Tリンパ球(Treg)などの免疫細胞の浸潤、大動脈弁狭窄症の重症度との関係を精査した。また臨床データとして(年齢、性別、家族歴、既往歴、治療歴、手術日、治療施行日、術前心臓超音波検査データ、術前心不全症状の程度(NYHA分類)、周術期呼吸循環データ、周術期データ、病理診断、術後心臓超音波検査データ、術後心関連合併症の有無、生存および死亡の確認日)を収集。PD-L1蛋白発現などとの関連性について検討した。

#### 4. 研究成果

免疫染色の結果、石灰化した大動脈弁において有意にPD-L1タンパクが発現していることが判明した。またPD-L1の発現はCD8陽性Tリンパ球とCD163陽性マクロファージの浸潤と相関がみられた。また、大動脈弁狭窄症の重症度が高く、石灰化が強い組織においては、FOXP3陽性Tregの浸潤度は低く、CD8陽性Tリンパ球、CD163陽性マクロファージの浸潤度が高かった。弁の圧較差との検討において、圧較差が強い症例においてもPD-L1の発現が強く見られていた。

つまり、弁の石灰化が存在すると免疫細胞浸潤と免疫チェックポイントタンパクの発現も強くなっていた。この結果を踏まえて、制御性T細胞や阻害薬などを用いることで、免疫制御システムを利用した石灰化の進行抑制メカニズムを解明していく必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Bilguun E0, Tatsuishi W, Yokobori T, Ohno T, Hatori K, Handa T, Oyama T, Shirabe K, Saeki H, Abe T.	4. 巻 5
2. 論文標題 Inflammatory and immune checkpoint markers are associated with the severity of aortic stenosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JTCVS Open	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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
---------------------------	-----------------------	----

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