

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2021

課題番号：18H06208・19K21311

研究課題名(和文)心臓マクロファージの分化機構の解析

研究課題名(英文)Developmental mechanism of cardiac macrophages

研究代表者

松原 巧(Matsubara, Takumi)

東京大学・医学部附属病院・特任臨床医

研究者番号：60824836

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々は心臓を構成する細胞の内、1%に過ぎない心臓マクロファージが心機能を規定していることを見出しており、心臓マクロファージが分泌するAmphiregulin(Areg)が心臓の恒常性維持に必須であることを明らかにしている。本研究では心臓マクロファージの分化において重要なシグナルがカテコラミンによる刺激と脂肪酸であることを明らかにした。脂肪酸による成熟化にGpr65が関与している。Gpr65のノックアウトマウスでは心臓の単位重量あたりの心臓マクロファージ数が減少する。Gpr65の骨髄細胞を移植したマウスでは野生型に比べて心拡大、心機能低下をきたした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

組織マクロファージの分化機構で明らかになっているものは少なく、特に心臓マクロファージについてはその分化機構の詳細についての検討は少ない。心臓マクロファージは心臓の恒常性維持に必須であり、その機能異常は心臓突然死や心不全に関連している。心臓の恒常性維持に必須である心臓マクロファージの分化機構を明らかにすることで、マクロファージの機能異常への介入が可能になり、新たな心不全治療の標的分子が明らかになる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We have determined that only 1% of the cells that make up the heart regulate cardiac function, and the Amphiregulin (Areg) which secreted by cardiac macrophages is essential for maintaining cardiac homeostasis. In the present study, we revealed that important signals in the differentiation of cardiac macrophages are α -stimulation by catecholamines and fatty acids. We revealed that fatty acids are involved in the maturation of macrophages, and Gpr65 is required for this maturation. Gpr65 knockout mice have a reduced number of cardiac macrophages per unit weight of the heart. Mice transplanted with Gpr65 bone marrow cells showed cardiac enlargement and reduced cardiac contraction compared to the wild type.

Elucidation of the differentiation mechanism of cardiac macrophages, which is essential for maintaining heart homeostasis, may reveal new target molecules for the treatment of heart failure.

研究分野：心臓マクロファージ

キーワード：心臓マクロファージ 分化

1. 研究開始当初の背景

心不全の新規治療法の開発のため、これまで主に心筋細胞を中心にほとんどの解析が行われてきた。我々は心臓を構成する細胞の内、1%に過ぎない心臓マクロファージが心機能を規定していることを見出した (*Nat Med*, 2017)。心臓マクロファージを除去しておく心臓への圧負荷時に心機能が低下し、高率に死亡した。さらに心臓マクロファージが分泌するエフェクター分子として同定したAregを投与すると心臓マクロファージがなくても心機能を回復させ圧負荷に対するストレス応答し、生存できるようになることを見出した(図1、*Nat Med*, 2017)。心臓マクロファージ-Areg軸は新しい心臓恒常性維持機構である。この軸の異常が心不全発症の新しい機序、治療標的になると思われる。そこで、次なる疑問は、この心臓マクロファージがどのように心臓特異的機能を獲得するか、すなわち心臓マクロファージ特異的分化機構を明らかにすることである。心臓特異的な機能的および分化マーカーであるAreg発現に關与するシグナル分子として、予備的知見としてすでに心臓に豊富に存在する脂肪酸とノルエピネフリンを同定し、受容体がそれぞれGpr65 (Tdag8)と β_2 アドレナリン受容体(β_2 -AR)であることも同定している。本研究計画では、心臓マクロファージの分化機構について検討し、心不全の新規治療標的を同定することに挑戦する。

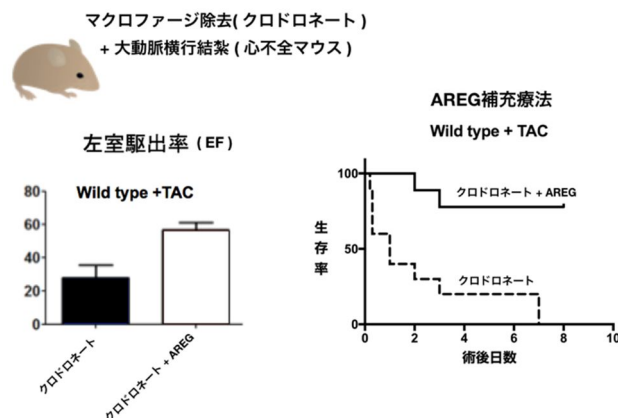


図1. 研究背景

心臓マクロファージが特異的に発現する Areg が心筋細胞に作用し、心機能を規定している。心臓マクロファージをクロドロネートで除去し、圧負荷心不全モデル (TAC: transverse aortic constriction) を作製すると心機能が低下し、早期に死亡するが (破線) Areg を補充しておく心臓マクロファージおよび Areg が心臓のストレス

2. 研究の目的

心不全は悪性腫瘍と同等かそれ以上に予後不良な全身疾患で、現在日本人の死因の第2位を占めている。近年、心不全患者は増加傾向にあり心不全治療に反応しない極めて予後不良の患者も存在する。そこでさらなる心不全の病態解明、新たな治療法の開発が求められている。我々はこれまでに心不全においてこれまで生理的な機能が未知であった心臓マクロファージの重要な役割、すなわち心筋細胞に対して保護的な作用があることを明らかにした (*Nat Med* 2017)。今後心臓マクロファージが治療の標的になる可能性があると確信している。本研究は心臓マクロファージがどのように分化し、マクロファージの中でも心臓特異的機能を獲得するのか？心臓特異的に分化したマクロファージは心筋細胞とどのように cell-cell interaction し、心臓の恒常性を維持するのか？を詳細に検討する。具体的には、予備的知見として、すでに、セルソーターを用いて心臓から単離した心筋細胞及び心臓マクロファージを用いて、次世代シーケンサーによる網羅的な遺伝子解析行なっている。本研究では心臓マクロファージの分化誘導に必須の因子の同定・解析を行い、新たな心不全の病態解明や、治療介入可能な遺伝子および long non-coding RNA を同定し、その機能解析を行い、心臓マクロファージと心筋細胞間の細胞間相互作用を介した新規心臓恒常性維持機構の解明を目指す(図2)。

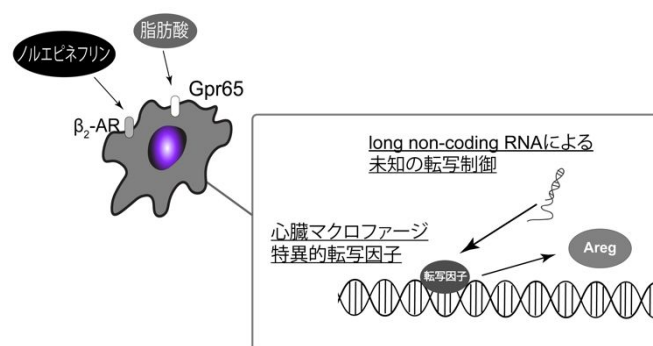


図2 研究目的

β_2 -AR と Gpr65 が Areg の上流に存在する。この2つの受容体の下流に存在し、心臓マクロファージ特異的に発現している転写因子を同定する。さらにその転写因子の発現を制御している long non-coding RNA の同定を目的としている。

3. 研究の方法

我々の研究室では *Areg* を心臓マクロファージの分化マーカーと位置づけ、心臓マクロファージの分化に関与する受容体遺伝子として *Adrb2* と *Gpr65* を同定した(Matsubara 未発表)。 *Adrb2* ノックアウトマウスおよび *Gpr65* ノックアウトマウスについて骨髄移植を行い、定常状態での心臓超音波検査および大動脈横行結紮後の超音波検査で心機能評価を行なった。フローサイトメトリーを用いて心臓マクロファージの分画を解析し、さらに網羅的遺伝子解析を行なった。

Gpr65 のリガンドが脂肪酸であることから、心内で脂肪酸を供給するために必須の遺伝子#1 についてコンディショナルノックアウトマウスを作製し、心臓超音波検査で心機能評価を行い、フローサイトメトリーで心臓マクロファージの分画を評価した。

4. 研究成果

Adrb2 ノックアウトマウスではフローサイトメトリーで心臓マクロファージの分画に大きな変化はないものの *Areg* の発現が低下していることが明らかになった。しかしながら、*Adrb2* ノックアウトマウスの骨髄移植マウスでは大動脈横行結紮を行なっても心不全死せず、生存期間も野生型の骨髄移植マウスと変わらなかった。

Gpr65 ノックアウトマウスはフローサイトメトリーで未分化なマクロファージの分画が増える傾向があり、重量当たりの心臓マクロファージの個数が野生型に比較して少ないことが明らかになった。網羅的遺伝子解析では *Areg* の発現の低下が認められた。

Gpr65 ノックアウトマウスの骨髄を移植したマウスでは心拡大が認められ、左室収縮能が野生型よりも低下することが明らかになった。しかしながら、大動脈横行結紮では生存期間に有意差はつかなかった。

我々は *Gpr65* が脂肪酸の受容体であることを同定しており、*Gpr65* の上流について検討した。脂肪酸を心内で供給する遺伝子#1 を同定しており、この遺伝子#1 についてコンディショナルノックアウトを用いたマウスを作製し解析を行うこととした。この遺伝子#1 のコンディショナルノックアウトマウスのフローサイトメトリーでは未分化な心臓マクロファージの分画が増加することが明らかになった。

現在、このコンディショナルノックアウトマウスについて心機能評価を行っており、*Gpr65* ノックアウトマウスとの表現型の比較および遺伝子解析を行い、分化誘導遺伝子の同定を試みている。

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

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