

令和 6 年 5 月 26 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17108

研究課題名（和文）心臓組織マクロファージのストレス応答機構に着目した心不全の新規治療標的の開拓

研究課題名（英文）mechanobiology of cardiac tissue macrophages

研究代表者

松田 淳（Matsuda, Jun）

東京大学・医学部附属病院・病院診療医（出向）

研究者番号：10786081

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：心臓組織マクロファージのストレス応答機構の解明のため、心臓に特有のストレスと思われるメカノストレスを培養細胞に与える実験系を作成し、膜タンパクであるTRPV2が関与している可能性を考えた。

マクロファージ特異的Trpv2ノックアウトマウスの心臓組織マクロファージに対して網羅的検索を行い、Trpv2の下流遺伝子としてAregを含む複数の遺伝子を同定、そのうちアンフィレグリンとGDF15を補充することによってマウスの低下した心機能が改善することを見出した。

今後は、経口投与可能な薬剤を用いて心臓組織マクロファージの心保護作用を増強し、うっ血性心不全の生命予後、機能予後の改善をめざしていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

うっ血性心不全は現在でもその患者数、死亡者数が増加し続けている疾患であり、患者の機能予後も大きく悪化させる疾患である。近年になって新規の治療標的が次々と提案されているが、その多くは心筋組織、血管平滑筋、あるいは腎臓をはじめとした他臓器との連関に着目されたものであり、心臓組織マクロファージの果たす役割についてはいまだ明らかでない。本研究は心不全に対する新たな治療標的を示唆するものであり、ヒトにおけるうっ血性心不全の生命予後、機能予後のさらなる改善に寄与しうるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the stress response mechanism of cardiac tissue macrophages, we created an experimental system in which cultured cells are subjected to mechano-stress, and considered the possibility that the membrane protein TRPV2 is involved. We performed mRNA-seq of macrophage-specific Trpv2 knockout mice and identified several downstream genes of Trpv2, including Areg. Supplementation test showed that amphiregulin and GDF15 improve impaired cardiac function of heart failure mice.

Cardiac tissue macrophages would be a novel therapeutic target of congestive heart failure.

研究分野：循環器内科学

キーワード：組織マクロファージ

#### 1. 研究開始当初の背景

駆出率の低下した心不全の生命予後を改善する薬剤として 遮断薬やレニン・アンギオテンシン・アルドステロン系阻害薬、近年では SGLT2 阻害薬やグアニル酸シクラーゼ阻害薬が知られるようになったが、現在でもうっ血性心不全の罹患率、死亡者数は増加傾向にある。筆者の研究室では以前に心不全モデルマウスにおいて心臓組織マクロファージがアンフィレグリンの分泌を介して心保護的に作用することを報告しており、心不全治療における新規の治療標的として期待できるのではないかと考えている。

#### 2. 研究の目的

心臓組織マクロファージの心保護作用の分子生物学的な機序を明らかにし、中長期的には心不全の新たな治療標的を設定、心不全の生命予後、機能予後を改善することを目的とした。

#### 3. 研究の方法

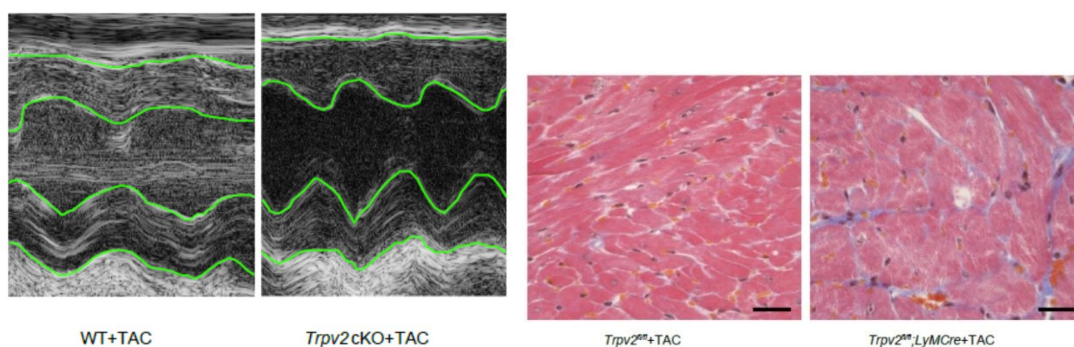
マクロファージに表現型の類似している培養細胞(RAW264.7)に対して周期的伸張刺激を与える実験系を作成し、*Areg* 遺伝子の転写亢進が得られることを確認、阻害薬や遺伝子ノックダウンを用いて機械的刺激受容体を推定した。

*Areg*の発現を亢進させると推定された機械的刺激受容チャネルをコードする *Trpv2* 遺伝子を骨髄球系のみでノックアウトするコンディショナルノックアウトマウスを作成し、このマウスの定常時および横行動脈結紮術(TAC)による心不全モデルでの表現型を解析した。これらのマウスで発現が低下していた分泌タンパクの補充実験を行い、この表現型についても解析を行った。

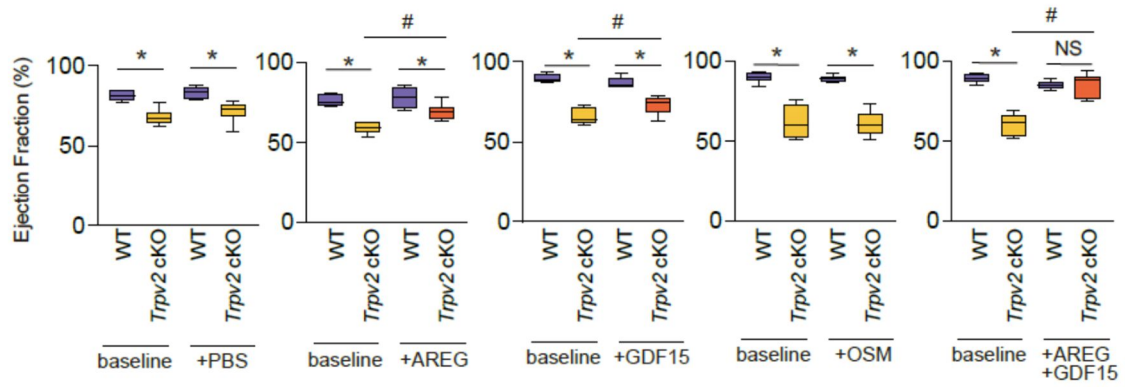
#### 4. 研究成果

RAW264.7細胞に対して60分/回、110%の周期的伸張刺激を24時間与えるとqRT-PCRやRNA-seqにおいて *Areg* 遺伝子の転写が亢進することが確認された。ついで既知の機械的刺激受容体の阻害薬・賦活薬を与えると、transient receptor potential (TRP)ファミリーのアゴニストであるprobenecidを投与した際に *Areg* の発現が大きく亢進することが確認された。RAW264.7やマウスの心臓組織マクロファージのRNA-seqにおいて最も転写量の多いTRPファミリー遺伝子は *Trpv2*であったため、以後本遺伝子に注目して研究を進めることとした。siRNAを用いて *Trpv2* をノックダウンすると、周期的伸張刺激後の *Areg* の発現は有意に抑制された。

*Trpv2* flox マウスと *LysMCre* マウスの交配によって骨髄球系特異的 *Trpv2* コンディショナルノックアウトマウスを作成したところ、このマウスはコントロール群と比較して有意に心拍数が速く、心駆出率が低下しており、心負荷を示唆するナトリウム利尿ペプチドをコードする *Nppa*, *Nppb* の転写も亢進していた。TACモデルにおいてはコンディショナルノックアウトマウスにおいてのみさらに駆出率が低下しており、これらのマウスでは心筋の線維化が進行していた。



*Trpv2* コンディショナルノックアウトマウスの心臓組織マクロファージをフローサイトメトリで分取するとコントロール群と比較して *Areg*, *Osm*, *Gdf15* の3種の分泌タンパク遺伝子の発現が低下していた。うち、アンフィレグリンとGDF15の補充実験を行うとコンディショナルノックアウトマウスの駆出率が改善することが確認された。



以上の結果から、心臓組織マクロファージは TRPV2 チャンネルを介して心臓の圧負荷を検知し、アンフィレグリンと GDF15 の分泌を促して心保護を行うことが示された。詳細な機序の解明、ヒトとの相同性の確認、他臓器での機能の評価といった課題は残るものの、心不全における新たな治療標的として有望な結果と考えられる。本研究結果については現在学術雑誌への改訂投稿中である。

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 1件）

1 . 発表者名 J. Matsuda, K. Fujiu, T. Oshima, T. Matsubara, J. Sugita, Y. Nakayama, E. Hasumi, T. Kojima, R. Yuki, F. Kudo, Y. Katanosaka, R. Nagai, I. Manabe and I. Komuro
2 . 発表標題 Mechanosensation by Cardiac Macrophages
3 . 学会等名 Basic Cardiovascular Sciences 2020 Scientific Sessions ( 国際学会 )
4 . 発表年 2020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
---------	---------