

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16495

研究課題名(和文) 末期重症心不全における心筋リモデリングに対するM2マクロファージの関与の検討

研究課題名(英文) Proof of concept of M2 macrophages for cardiac remodeling of end-stage heart failure

研究代表者

山下 築 (YAMASHITA, Kizuku)

大阪大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60778661

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：左室補助人工心臓(LVAD)装着術時に摘出された左室心筋を分析し、ヒトの末期重症心不全におけるマクロファージの関与を解析した。我々の研究ではLVAD装着後にLVAD off-testを行った上で心機能が改善した群と非改善群に群分けを行い検討した結果、LVEF改善群では心エコーで有意にリバースリモデリングの所見を認めた。さらに採取した左室心筋に存在するM1/M2マクロファージの表現型と分布を調査した結果、LVEF改善群では組織中にM2マクロファージが多い傾向にあった。これらの結果から、M2マクロファージはLVAD植え込み術後の重症心不全において有用に働く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

本研究では自己骨髄由来M2マクロファージを用いた細胞治療の臨床応用を見据え、LVAD装着術時に末期重症心不全患者から摘出した左室心筋を元に細胞治療に有用なM2マクロファージを明らかにする。有望なM2マクロファージを同定、誘導することができれば、細胞治療により将来的に難治性心不全患者においてLVAD装着が必要となる末期重症心不全への悪化を防ぐ、もしくは進行を遅らせることができる。また患者自身の骨髄から作成したM2マクロファージを大量に誘導し細胞治療に用いることができれば、免疫抑制療法は不要な低侵襲な再生医療の実現となり、現行医療で治療困難な多くの末期重症心不全患者を救うことができる。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate the role of repairable (M2) macrophage, we investigated left ventricle sample in patients with severe heart failure. When the patients underwent left ventricular assist device (LVAD) implantation, the samples were analyzed after coring heart for LVAD inflow. In addition, we focused on the hemodynamics change of the patients before and after LVAD implantation. Following the investigation, the recovery rate of patients showing improved left ventricular ejection fraction (LVEF) was significantly higher than not improved group whilst turning down and off test of LVAD was conducted. From the echocardiographic data, LVEF improvement group had reverse remodeling of heart function. Concentrating on the density and numbers of the phenotype of macrophage, more M2 macrophages than proinflammatory (M1) macrophage existed in the harvested heart specimen. To sum up, M2 macrophage may play a pivotal role in cardiac recovery in severely damaged myocardium after LVAD implantation.

研究分野：再生医療

キーワード：M2マクロファージ 重症心不全 心筋修復 LVAD

1. 研究開始当初の背景

難治性重症心不全に対する細胞移植は、外科的治療と比べ低侵襲であり治療効果の望める将来的に期待される治療法の一つである。近年、心筋内マクロファージが心不全の予後改善に影響を与えるのではないかと注目されてきている。心不全の初期である炎症急性期においては骨髄由来単核球が障害心筋に遊走し、壊死細胞の貪食、除去、炎症反応の惹起を担うマクロファージ(M1 マクロファージ)への分化が支配的であるが、炎症後期相になると異なるタイプの骨髄由来単核球が障害心筋に誘導され、炎症を抑え組織修復機能を持つマクロファージ(M2 マクロファージ)への分化が優勢となる。この炎症惹起と収束のバランスが崩れることにより、有害な炎症反応が遷延し、心筋リモデリングにより心機能が損なわれていく。これらのことから、炎症を収束、減弱させる作用のある M2 マクロファージは心筋修復過程における心筋リモデリングにおいて重要な役割を果たしていると考えられる。本研究では M2 マクロファージによる炎症収束反応を調査しその関与を解明することで、M2 マクロファージの有害炎症に対する治療的效果を明らかにすることができる。すなわち、M2 マクロファージを用いた細胞治療の可能性について検討することができる。

2. 研究の目的

本研究では、まず左心補助人工心臓(LVAD)が必要となった末期重症心不全患者から摘出した左室心筋を解析することで、心筋修復に有用な M2 マクロファージのサブセット、その組織修復能・メカニズムを解明する。これらの研究結果から、有望な M2 マクロファージを同定、誘導することができれば、M2 マクロファージを用いた細胞治療により将来的に難治性心不全患者において LVAD 装着が必要となる末期重症心不全への悪化を防ぐ、もしくは進行を遅らせることができる。結果として、心臓ドナー不足に直面している本邦において、治療抵抗性の心不全における LVAD 装着術や心移植術以外の治療手段を示すことができ、重症心不全患者にとって大きな利益となりうる。

3. 研究の方法

LVAD 装着時のコアリングされた心筋検体を免疫染色にて M1 および M2 マクロファージの分布や発現型を調査する。また臨床データと照らし合わせて左室駆出率(LVEF)が改善した LVEF 改善群と非 LVEF 改善群に分けて、血行動態、組織学的差異を明らかにする。

具体的には

末期重症心不全患者から摘出した左室心筋を用いて免疫染色により M2 マクロファージの組織学的に局在性を解析し、M1 ならびに M2 マクロファージの左室心筋内の局在性・表現型・存在数(免疫染色ならびに RT-PCR 法)・M1/ M2 マクロファージの割合について解明する。

LVAD 装着後の患者の心機能、血行動態、心臓関連有害事象、生存予後について良好な群における M2 マクロファージの詳細な表現型、線維化の程度などの心筋病理を不良群と比較しその差異について明らかにする。

4. 研究成果

本研究における対象症例は、まず申請者の所属する施設で LVAD 植え込み術を施行された症例のうち、血行動態評価を LVAD weaning 時にも子細に行われた(LVAD 植え込み後の LVAD-off test 前後の血行動態評価が行われた)44 例を対象とした。このうち LVEF 改善群は 26 人(59.1%)、非改善群は 18 人(40.9%)であった。LVEF 改善群と非改善群を比較すると、LVAD 植え込み術前の心機能データに差はなかったものの、LVAD-off テスト時では LVEF 改善群と非改善群では、LVEF(39.6 ± 13.7mm vs. 12.1 ± 9.5mm, p<0.001), LVDd(51.5 ± 11.8mm vs. 61.3 ± 16.1mm, p=0.0316), LVDs(42 ± 12.7mm vs. 58.7 ± 15.5mm, p=0.0024)であった。また LVAD 植え込み後に LVAD を離脱できるか否かの指標として既報にある指標として LVDd 60mm 未満の有無、術前と LVAD-off テストを比較して LVEF 5%以上の改善が得られたかどうかについても調査した。LVAD-off テスト時の LVDd<60mm 未満の症例では、LVEF 改善群が非改善群に対して有意差に多かった(19 例 vs. 7 例, p=0.023)。さらに LVEF 改善群では全例 LVEF>40%で、術前と比べた LVEF 改善率 5%以上の症例数は LVEF 改善群、LVEF 非改善群で 25 例 vs. 0 例 (p<0.001)であった。植え込み型 LVAD の離脱率を Kaplan-Meier 法で検討したところ LVEF 改善群と非改善群の 1 年、3 年、5 年で離脱率は

それぞれ 6.7% vs 0%、20.7% vs 0%、20.7% vs 0%であった ($p=0.028$)。LVEF 改善群のうち離脱症例と非離脱症例を検討したところ、LVAD 植え込み前と比較し、LVAD-off テスト時の EF 上昇率は離脱症例で有意に高かった ($340.8 \pm 222.6 \%$ vs. $164.5 \pm 53.0 \%$, $p=0.0318$)。

また組織学的評価では、LVAD 植え込み術を要した原疾患において差異がみられた。虚血性心筋症では LVEF 改善群と非改善群において M1 および M2 マクロファージの分布や細胞数に有意差はみられなかったものの、本邦における心臓移植の最も多い原疾患である拡張型心筋症においては、LVEF 改善群において M2 マクロファージ数は非改善群と比べ多い傾向にあった。

これらの結果から、LVAD 植え込み術を必要とする重症心不全患者において LVEF 改善群では LVEF 非改善群と比較しリバーシリモデリングがより多く生じていた。一方でその要因の一つとして、組織学的検討では、心機能改善群では M2 マクロファージが多く発現しており、同細胞によって心筋リバーシリモデリングにおける有用な働きをしている可能性があると考えられた。他方、植込み型 LVAD の離脱に至った症例では LVEF 改善群の中でも比較的少数であり、心筋リバーシリモデリングにおいて、M2 マクロファージの中でもより心機能改善・心修復に有用なサブセットが存在する可能性が示唆された。与えられた研究期間内に有用な M2 マクロファージサブセットの同定やそのメカニズム解明までは行うことができず、今後の課題として取り組む予定である。

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 Inoue Koichi, Fujita Tomoyuki, Yoshioka Daisuke, Tonai Kohei, Yanagino Yusuke, Kakuta Takashi, Tadokoro Naoki, Kawamoto Naonori, Yamashita Kizuku, Kawamura Ai, Matsuura Ryohei, Kawamura Takuji, Saito Tetsuya, Kawamura Masashi, Kainuma Satoshi, Fukushima Satsuki, Toda Koichi, Miyagawa Shigeru	4. 巻 86
2. 論文標題 Short-Term Outcomes of Magnetically Levitated Left Ventricular Assist Device in Advanced Heart Failure The Japanese Cohort	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 1961 ~ 1967
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-22-0332	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Kizuku Yamashita
2. 発表標題 虚血性心不全モデルにおける組織修復性(M2)マクロファージの有用性の検討
3. 学会等名 第11回細胞再生医療研究会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

research map https://researchmap.jp/ky_osaka-u_2020

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