

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 9 月 6 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2016

課題番号：16K15437

研究課題名(和文)心不全におけるマクロファージニッチの変容とその制御機序の解明

研究課題名(英文)Alterations in cardiac macrophages in heart failure

研究代表者

眞鍋 一郎 (MANABE, Ichiro)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：70359628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：心臓においてマクロファージは、恒常性の維持から心不全まで、多彩な機能で心臓の応答を制御する。マクロファージ機能の変化は、心不全の進展に寄与すると考えられる。本研究では、心筋微小環境(ニッチ)とマクロファージの相互作用が、心臓マクロファージの機能変化を制御すると考え、その機序を解析した。心臓負荷がマクロファージエピゲノムを大きく変容させることを見いだした。また、その変化を司る cis 制御エレメントを同定した。心臓微小環境が作用する転写制御領域を同定し、シグナルならびに転写制御機序をバイオインフォマティクスの解析した。

研究成果の概要(英文)：Cardiac macrophages play various roles in the cardiac response to stress. In this study we hypothesized that the changes in cardiac macrophage function might contribute to the development of heart failure and that the changes might be regulated by the interaction between cardiac microenvironment and macrophages. We analyzed transcriptomes and epigenome in macrophages by RNA-seq and ATAC-seq and found that cardiac stress greatly altered epigenome in macrophages. We then identified several transcriptional regulatory motifs that may control epigenome in response to cardiac stress. We have also identified regulatory regions that respond to cardiac microenvironment and regulate cardiac macrophage-specific gene expression.

研究分野：循環器内科学

キーワード：マクロファージ 心不全 エピジェネティクス

## 1. 研究開始当初の背景

マクロファージは心血管疾患の病態プロセスで多彩な機能を示し、炎症による組織破壊から線維化・リモデリングまで一貫して主要なエフェクター細胞として働く。我々は、心臓の常在マクロファージが心臓ストレスに対する保護的・適応的応答に必須であることを見いだした (*Nat Med* 2017、図 1)。心臓への圧負荷によって心臓常在マクロファージは、その場で増殖し、Amphiregulin 等のパラクライン因子を分泌して心臓を保護する。このようにマクロファージは、恒常性の維持から心不全まで、多彩な機能で心臓の細胞応答をリードすることが分かってきた。一方、マクロファージの機能活性は、定常状態では組織保護的な M2 型を示すが、心不全では、炎症促進性の M1 型へとシフトする。このようなマクロファージ活性の変化が心不全進展の鍵となっていると考えられる。

従来、組織に存在するマクロファージは骨髄から単球としてリクルートされ、常に置き換わっていると考えられていた。しかし近年、心臓に常在するマクロファージの多くが胎児組織由来であり、心筋内で増殖して維持されていることが明らかとなった (*Immunity* 40:91)。また、我々の解析では、心臓常在マクロファージのトランスクリプトームは骨髄由来マクロファージのそれとは大きく異なっている。このような心臓常在マクロファ

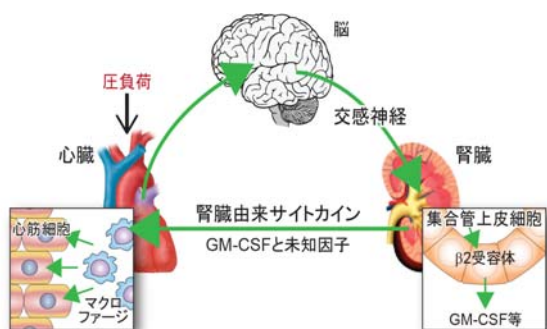


図 1 心臓-脳-腎臓ネットワークによる心臓恒常性維持

心臓ではマクロファージが心臓を保護する必須の機能を持つ

ージの特異的なエピゲノムや自己複製は、心臓に固有な微小環境 (ニッチ) が支えていると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究計画では、心不全においては、心臓のマクロファージニッチの変化が、心臓常在マクロファージの機能を改変し、病態を促進するという仮説のもと、マクロファージとニッチの変化を解析し、ニッチとマクロファージの相互作用の変化を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 心臓常在マクロファージに固有なエピゲノム形成機序の解析

心臓常在マクロファージは心筋内で自己複製しており、また圧負荷等のストレスによってその増殖は活性化する。しかし自己複製を支えるメカニズムは全く分かっていない。また、我々は圧負荷時には腎臓由来 GM-CSF が増殖の引き金を引くことを見いだしているが、心筋内の因子も必要であり、病態時のマクロファージ増殖を刺激する心筋内の微小環境因子も不明である。また心臓常在マクロファージのトランスクリプトームは、他の組織マクロファージや、骨髄由来マクロファージとは大きく異なっており、心筋に固有の微小環境が特異的なエピゲノムを形作っていると考えられる。そこで、本項目では心臓常在マクロファージの増殖を支え、エピゲノムを教育し、心臓常在マクロファージに特徴的なエピゲノムを形作る微小環境因子を同定するため、心臓常在マクロファージに固有なエピゲノムとその形成機序を検討する。

### (2) 心臓常在マクロファージニッチの解析

心筋の微小環境要因と、心臓マクロファージ側のシグナル経路の解析により、心臓マクロファージに固有のエピゲノムと遺伝子発現をもたらすシグナル経路を推定し、その作用を解析する。

### (3) 心不全におけるマクロファージニッチ変容とエピゲノム変化の解析

マウス心不全モデルにおける心臓常在マ

クロファージの変化をエピゲノム、トランスクリプトームの観点から解析する。

#### 4. 研究成果

##### (1) 心臓常在マクロファージに固有なエピゲノム形成機序の解析

心臓常在マクロファージに固有なエピゲノムとその形成機序を検討した。心臓常在マクロファージに特有のエピゲノムを解析するために、ゲノムワイドでオープンクロマチン領域を同定できる ATAC-seq と RNA-seq を行った。骨髄由来マクロファージや他の組織マクロファージと異なるエピゲノムの特徴を抽出する目的で、バイオインフォマティクス解析を行い、例えば *Amphiregulin* 遺伝子座に心臓マクロファージ固有な制御領域があることを見いだした。また、心臓常在マクロファージの制御領域に濃縮している転写因子結合モチーフを同定した。さらに、心臓固有の制御領域を CRISPR/Cas9 システムにより欠損させる系を確立した。

##### (2) 心臓常在マクロファージニッチの解析

心臓マクロファージのエピゲノム変化を ATAC-seq により解析するとともに、RNA-seq による心臓及び心臓マクロファージのトランスクリプトームを解析した。これらの結果から、心臓常在マクロファージに固有なシグナルと転写制御プログラムの候補を絞り込んだ。同定した候補分子の機能的意義について、骨髄由来マクロファージや胎児肝臓由来マクロファージを用いて解析し、心臓マクロファージに特有の遺伝子発現をもたらす分子を複数同定した。

##### (3) 心不全におけるマクロファージニッチ変容とエピゲノム変化の解析

心臓圧負荷によるマウス心不全モデルから心臓マクロファージを単離し、そのエピゲノムとトランスクリプトームを解析した。また、心臓全体のトランスクリプトームの解析を行い、心臓圧負荷により心臓マクロファージ機能の変化を誘導する因子のバイオインフォマティクス的な絞り込みを行った。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者は下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Fujiu K, Shibata M, Nakayama Y, Ogata F, Matsumoto S, Noshita K, Iwami S, Nakae S, Komuro I, Nagai R, Manabe I. A heart-brain-kidney network controls adaptation to cardiac stress through tissue macrophage activation. *Nat Med* 2017  
DOI: 10.1038/nm.4326 査読有

[学会発表] (計 3 件)

- ① 眞鍋一郎、心臓-脳-腎臓連携による心臓恒常性の維持と心不全、CVMW2016 心血管代謝週間、2016 年 12 月 16 日、東京コンベンションホール (東京)
- ② Manabe I, Immune regulation of the cardiovascular system. 第 39 回日本高血圧学会総会、2016 年 10 月 1 日、仙台国際センター (仙台)
- ③ Manabe I, Immunometabolic regulation of cardiac homeostasis and heart failure. The 19th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience. Chronic Inflammation - Initiation, Progression and Resolution. 2017 年 1 月 21 日、武田薬品研修所 (大阪)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://plaza.umin.ac.jp>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

眞鍋 一郎 (MANABE, Ichiro)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：70359628

(2) 研究協力者

藤生 克仁 (FUJIU, Katsuhito)

東京大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：30422306

松本 佐保姫 (MATSUMOTO, Sahohime)

千葉大学・大学院医学研究院・特任助教

研究者番号：80570184

中山 幸輝 (NAKAYAMA, Yukiteru)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70721885