

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09590

研究課題名(和文)急性心筋梗塞後の心臓修復を促進する革新的PPAR ナノ医薬の研究開発

研究課題名(英文)PPARgamma nanomedicine that promotes cardiac healing after acute myocardial infarction

研究代表者

的場 哲哉(Matoba, Tetsuya)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：20448426

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)：マウス心筋虚血再灌流モデルにおいて、虚血再灌流心に組織障害性M1マクロファージによる炎症と組織修復性M2マクロファージの集簇が段階的に起こる。PPAR ナノ医薬としてピオグリタゾン封入ナノ粒子を作成し、再灌流後の投与によりPPAR ナノ医薬が急性炎症を抑制するとともに、心臓組織におけるマクロファージM1/M2分化を組織修復性M2優位に制御すること、それとともに心筋梗塞後リモデリングを抑制することを示した。この研究により、ナノ医薬のプラットフォームの有用性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究により、急性心筋梗塞病態における急性炎症と組織修復の制御による新しい疾病治療コンセプトを示すとともに、ナノ医薬プラットフォームの有用性を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：In a mouse model, myocardial ischemia-reperfusion causes sequential inflammation by M1 pro-inflammatory macrophages and M2 tissue healing macrophages. A nano-medicine containing PPAR gamma agonist pioglitazone, injected at repletion, reduced infarct size by skewing macrophage polarity toward less-inflammatory, resulting in an inhibition of left ventricular remodeling and improvement of prognosis in the mouse model.

研究分野：循環器内科学

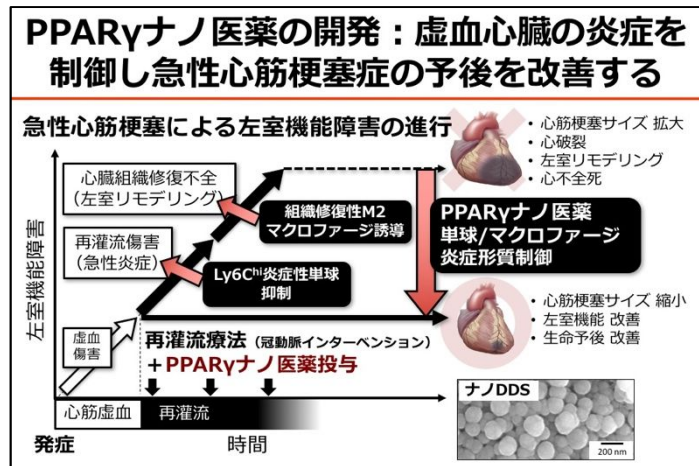
キーワード：心筋梗塞 炎症 マクロファージ ナノテクノロジー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

急性心筋梗塞症に対する標準治療は早期再灌流療法であり、虚血による心筋細胞傷害を抑止する一方、冠動脈の再灌流に伴う再灌流傷害は心筋梗塞サイズを拡大する。この虚血再灌流傷害 (Ischemia-reperfusion injury) の機序の一つとして、単球・マクロファージを介した炎症と、その修復過程の障害が

挙げられる。さらに、心筋梗塞完成後の左室リモデリングは炎症の収束にともなう心臓組織修復過程の不全によるものであり、これらの病態において、炎症および修復過程への介入による新しい治療コンセプトの開発が求められていた。



## 2. 研究の目的

本研究は、急性心筋梗塞病態 (心筋虚血再灌流傷害および梗塞後心臓組織修復) において、単球・マクロファージを介した炎症およびその収束・修復の役割を明らかにし、この過程を制御するため、核受容体 PPAR を標的としたナノ医薬を開発することを目的とした。

## 3. 研究の方法

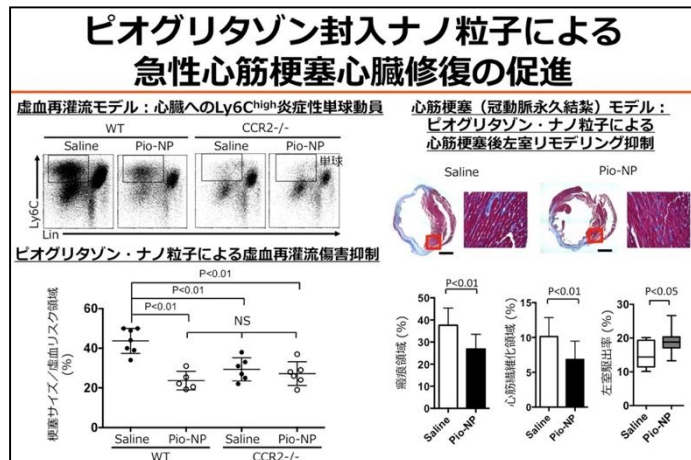
- 1) 心筋虚血再灌流傷害および梗塞後左室リモデリングにおける炎症の役割の解析  
マウス冠動脈結紮・再開通による虚血再灌流モデルおよびマウス冠動脈永久結紮による心筋梗塞モデル：遺伝子改変マウス、心臓組織フローサイトメトリー、蛍光トモグラフィー、病理学的解析を組み合わせ、単球およびマクロファージの動態および役割を解析する。
- 2) PPAR ナノ医薬による左室機能改善効果とメカニズムの解明
  - (a) 心筋虚血再灌流モデル：PPAR アゴニストであるピオグリタゾン封入ナノ粒子を作成し、マウスモデルにおける冠動脈再灌流時静脈内投与が、心臓の急性炎症の抑制と併に、心筋梗塞サイズを縮小するかを検討する。
  - (b) 心筋梗塞モデル：心筋梗塞完成後にピオグリタゾン封入ナノ粒子を静脈内投与し、左室リモデリング (癒痕部の菲薄化および拡大、残存心筋の繊維化および肥大) を抑制するかを検討する。
- 3) PPAR ナノ医薬による予後改善効果の検討  
心筋梗塞マウスモデルにおいて、ピオグリタゾン封入ナノ粒子の静脈内投与による急性心筋梗塞後の生命予後改善効果を検討する。

## 4. 研究成果

- 1) 心筋虚血再灌流傷害および梗塞後左室リモデリングにおける炎症の役割を検討するため、マウス虚血再灌流モデルおよび心筋梗塞モデルの心臓において、白血球を抽出し炎症性単球/マクロファージの動員をフローサイトメトリーで検討した。虚血再灌流後の心臓に対して Ly6C<sup>high</sup> 炎症性単球が 12 時間後をピークに動員されることを示した。  
また、Ly6C<sup>high</sup> 動員を伴う急性炎症が収束する虚血再灌流 24-48 時間後には、

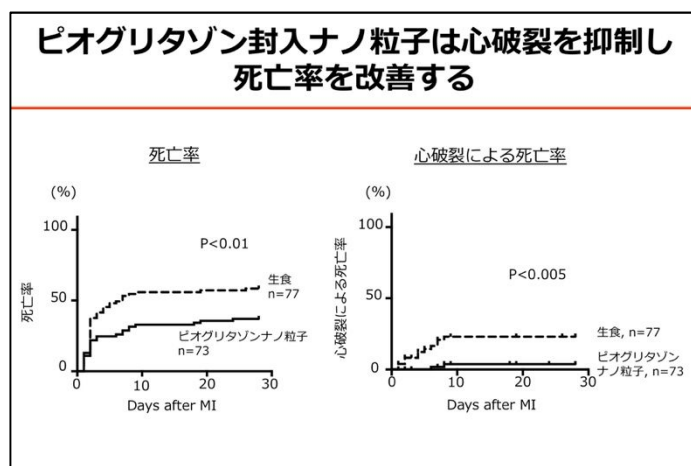
Ly6C<sup>low</sup>CD11b 単球 / マクロファージが観察され、心臓組織修復過程における M2 マクロファージの動員と考えられた。したがって、続く検討ではこれら Ly6C<sup>high</sup> 炎症性単球 / M1 マクロファージおよび Ly6C<sup>low</sup> 単球 / M2 マクロファージの動態を検討した。

2) PPAR ナノ医薬による左室機能改善効果を検討するため、PPAR ナノ医薬としてピオグリタゾン封入ナノ粒子(Pio-NP)を作成し、マウス心筋虚血再灌流モデルにおいて静脈内投与の治療効果を検討した。Pio-NP が心臓組織に対する Ly6C<sup>high</sup> 炎症性単球の動員を抑制し、それに伴って心筋梗塞サイズを減少させることを示した。CCR2 欠損マウスでは再灌流心臓への単球動員および心筋梗塞サイズが小さく、Pio-NP の治療効果はみられない。したがって、Pio-NP 心筋梗塞縮小効果は CCR2 を介した急性炎症の抑制に依存すると解釈した(上図)。



心筋梗塞モデルにおいて、心筋梗塞作成後 3、7 日目の心臓組織におけるフローサイトメトリー、蛍光分子トモグラフィーにより、Pio-NP が心臓組織における M1/M2 分化を M2 優位に誘導するとともに、心臓組織における炎症と MMP 活性を抑制、梗塞瘢痕領域の縮小、菲薄化の抑制、残存心筋の繊維化の抑制、左室駆出率の改善することを示した(上図)。

3) PPAR ナノ医薬による生命予後改善効果の検討のため、マウス心筋梗塞モデルにおいて心筋梗塞作成手術から回復後に無作為化し、Pio-NP または溶媒を 3 日間連続で投与した。マウスを継続飼育・観察し、Pio-NP 投与が総死亡および心破裂による死亡を抑制することを



明らかとした(右図)。Pio-NP 群では心臓におけるマトリックス分解酵素 MMP2 の発現および活性 (MMPsense) が抑制され、一方、内因性の MMP 阻害因子である TIMP1 の発現が亢進していた。これらは心臓組織における M1/M2 polarity のシフトと整合した。

以上の研究により、急性心筋梗塞病態における無菌性炎症とその収束が、心筋梗塞サイズ拡大、心筋梗塞後の死亡と左室リモデリングに寄与するという病態パラダイムを示すことができ、その中でナノ医薬プラットフォームによる急性炎症と組織修復の制御という疾病治療コンセプトを示すことができた。研究成果を Cardiovascular Research 誌 (Tokutome M, Matoba T, et al. *Cardiovasc Res*. 2019;115:419-431.) に報告した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Tokutome Masaki, Matoba Tetsuya, Nakano Yasuhiro, Okahara Arihide, Fujiwara Masaki, Koga Jun-ichiro, Nakano Kaku, Tsutsui Hiroyuki, Egashira Kensuke	4. 巻 115
2. 論文標題 Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma targeting nanomedicine promotes cardiac healing after acute myocardial infarction by skewing monocyte/macrophage polarization in preclinical animal models	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cardiovascular Research	6. 最初と最後の頁 419 ~ 431
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cvr/cvy200	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matoba Tetsuya, Koga Jun-ichiro, Nakano Kaku, Egashira Kensuke, Tsutsui Hiroyuki	4. 巻 70
2. 論文標題 Nanoparticle-mediated drug delivery system for atherosclerotic cardiovascular disease	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 206 ~ 211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2017.03.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Katsuki Shunsuke, Matoba Tetsuya, Koga Jun-ichiro, Nakano Kaku, Egashira Kensuke	4. 巻 4
2. 論文標題 Anti-inflammatory Nanomedicine for Cardiovascular Disease	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Cardiovascular Medicine	6. 最初と最後の頁 1383 ~ 1395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcvm.2017.00087	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 1件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tetsuya Matoba
2. 発表標題 Targeting Cyclophilin D and Inflammation with Nano-medicines in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury.
3. 学会等名 3rd Annual 2019 International Hawaii Cardiovascular Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

九州大学循環器内科・冠動脈疾患・動脈硬化研究グループ  
<https://www.cardiol.med.kyushu-u.ac.jp/research/ascvd/>

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