

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年5月28日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15990

研究課題名(和文)心室拡張不全への治療応用を目指した心線維化制御因子の探索

研究課題名(英文)Research for the factor regulating activation of cardiac fibroblasts

研究代表者

安部 元(Abe, Hajime)

東京大学・医学部附属病院・登録研究員

研究者番号：50746576

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、マクロファージ由来の心線維芽細胞活性化制御因子を同定し、心線維化に対する新たな治療法開発への一助とすることを目的としている。

心線維化は心不全の独立した予後不良因子であるが、心収縮不全と異なり、心線維化を主な原因とする心拡張不全に対する有効な治療法は存在せず臨床的に大きな問題となっている。マクロファージ特異的低酸素誘導因子1欠失マウスを用い、心線維化におけるマクロファージの役割について解析を行った。その解析からM1マクロファージがHIF-1依存的に分泌する炎症性サイトカインが線維芽細胞活性化を抑制することを確認した。この知見は論文の形で報告することが決定し現在印刷中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国で増加傾向を示す慢性心不全患者に対する治療はこの20年間で大きな進歩を遂げている。特に心臓収縮能が低下したことにより生じる心不全には心筋保護作用を有する薬剤により大幅に改善してきた。しかし、心不全には心筋収縮能低下を原因とするものに加えて心線維化により心臓の拡張能が障害されることを原因とする病態が存在することが明らかとなっている。心臓拡張障害は独立した生命予後増悪因子であるにも関わらず現在でも有効な治療法はなくその生命予後はほとんど改善していない。

本研究において我々が明らかにした知見は、心臓線維芽細胞活性化を抑制することで心線維化に対する新たな治療法開発への一助となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to identify the macrophages secretory factor that regulate activation of cardiac fibroblasts. Recently, cardiac fibrosis was found to be an independent prognostic factor. Nevertheless, there is no effective therapy for cardiac fibrosis. Cardiac fibrosis is a major problem in the clinical field.

We used macrophages specific hypoxia inducible factor-1a (HIF-1a) knockout mice for the analysis and investigated the roles of M1 macrophages in the pathology of heart failure. And we found that a M1 macrophage inflammatory cytokine that is produced in HIF-1a dependent manner in hypoxic condition suppress the activation of cardiac fibroblasts. Currently, this paper is in press and will be published.

研究分野：循環器内科

キーワード：心線維化

## 1. 研究開始当初の背景

心線維化は独立した生命予後増悪因子であるにも関わらず、現時点でも有効な治療法は無く、心線維化の病態機構の解明と治療法の開発は臨床循環器において極めて重要な課題である。これまで心線維化病態の進展および退縮過程を再現する病態モデルが存在せず、その病態機構解明は困難であった。

近年、心臓リモデリングの病態にマクロファージを中心とした炎症シグナルの活性化が関わることが分かってきたが、心臓の線維化進展および退縮におけるマクロファージの役割については未だ明らかにされていない。

マクロファージはサブタイプとして、炎症惹起型(M1) と炎症抑制型(M2) に大きく分類されることがわかっている。低酸素環境において、細胞や組織はそれぞれ固有の応答を示すが、その主要な反応は Hypoxia inducible factor(HIF)-1、HIF-2 と呼ばれる一群の低酸素応答転写因子群により調節されている。

## 2. 研究の目的

心臓に集積するマクロファージ亜集団がそれぞれ心線維化の制御において重要な役割を果たしているとの仮説のもとに、いまだ治療法の見つかっていない心線維化に対する新たな治療法開発への一助とすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

これまで我々は HIF-1・HIF-2 がそれぞれ M1・M2 マクロファージ活性化において必須の役割を果たすことを明らかにしてきた。さらに、最近マクロファージの HIF-1 シグナルが代謝を解糖系にシフトさせることで細胞内 ATP 局在を調節し、低酸素領域へのマクロファージ遊走を正に制御していることを明らかにした。これらの知見を生かし、マクロファージ特異的 HIF-1 ノックアウトマウスを用いて心臓線維化における、マクロファージ低酸素シグナルの解析を行う。

## 4. 研究成果

低酸素領域を標識する燐光プローブ (LOX-1) を用いてマウス横行大動脈縮窄モデル (Transverse aortic constriction, TAC) 後の心筋組織の解析を行い、心不全の心筋組織が低酸素環境に陥っていることを見出した (図 1)。更に、その低酸素領域に炎症細胞が浸潤している事を見出した。マクロファージ特異的 HIF-1 ノックアウトマウスを用いて解析を行い、以下の知見を見出した。

1. M1 マクロファージが TAC 後急性期の心筋組織に集積する。
2. マクロファージ HIF-1 欠失マウスは M1 マクロファージ集積が低下し、心線維化が減少する (図 2)。
3. M1 マクロファージ由来液性因子が TGF による線維芽細胞活性化の抑制効果を示す。

心線維化形成期において集積する M1 マクロファージが液性因子を分泌し心臓線維芽細胞の活性化を抑制していると

考えられた。実際に低酸素刺激したマクロファージの上清は心臓

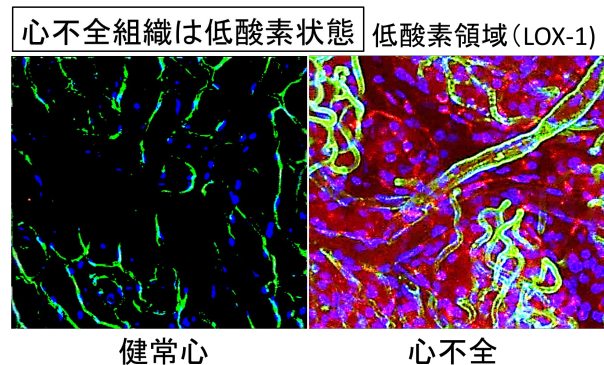


図 1. 低酸素 imaging

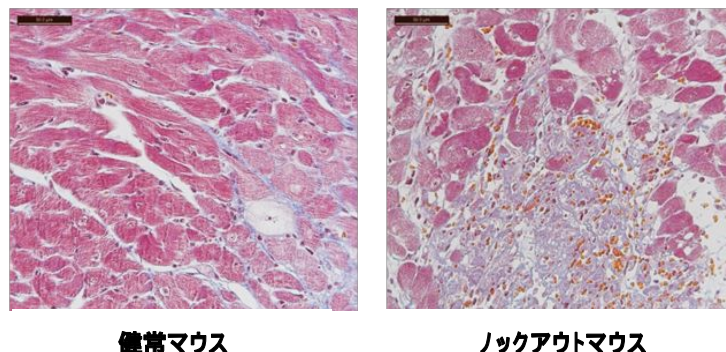


図 2. ノックアウトマウスでは線維化が亢進する

線維芽細胞を用いた *in vitro* の系において TGF $\beta$  による線維芽細胞の活性化を抑制することを確認した。

RNA シークエンスを用いて、M1 由来、低酸素依存的に分泌される液性因子の絞り込みを行った(図 3)。絞り込みの結果、炎症性サイトカインの同定にまで至った。さらに、線維芽細胞特異的受容体ノックアウトでも今回の発見を裏付ける結果が得られた。この知見は論文の形で報告することが決定し、現在印刷中である。

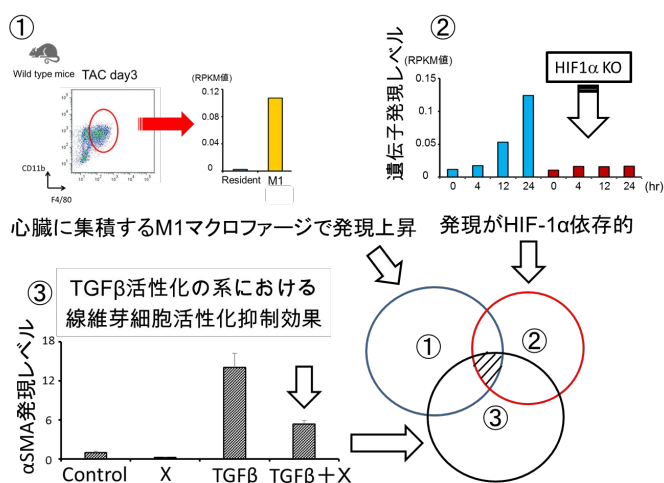


図 3. M1 由来の心臓線維芽細胞活性化制御因子の探索

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. [Abe H](#), Takeda N, Isagawa T, Semba H, Nishimura S, Morioka M, Nakagama Yu, Sato T, Soma K, Koyama K, Wake M, Katoh M, Asagiri M, Neugent M, Kim J, Stockmann C, Yonezawa T, Inuzuka R, Hirota Y, Maemura K, Yamashita T, Otsu K, Manabe I, Nagai R, Komuro I. Macrophage hypoxia signaling regulates cardiac fibrosis via Oncostatin M. *Nature Commun.* 2019 (in press). 査読有、
2. [Abe H](#), Iguchi N, Utanohara Y, Takada K, Hen Y, Machida H, Takeda N, Sumiyoshi T. Planimetry of the orifice area in aortic valve stenosis using phase-contrast cardiac magnetic resonance imaging. *Int Heart J.* 2018 Jan 27;59(1):77-80. doi: 10.1536/ihj.16-542. 査読有
3. [Abe H](#), Semba H, Takeda N. The Roles of Hypoxia Signaling in the Pathogenesis of Cardiovascular Diseases. *J Atheroscler Thromb.* 2017 Sep 1;24(9):884-894. doi: 10.5551/jat.RV17009. 査読有
4. Goodwin J, Neugent ML, Lee SY, Choe JH, Choi H, Jenkins DMR, Ruthenborg RJ, Robinson MW, Jeong JY, Wake M, [Abe H](#), Takeda N, Endo H, Inoue M, Xuan Z, Yoo H, Chen M, Ahn JM, Minna JD, Helke KL, Singh PK, Shackelford DB, Kim JW. Distinct Metabolic Phenotypes within Non-small Cell 1 Lung Cancer Define Selective Vulnerability to Glycolytic Inhibition of Lung Squamous Cell Carcinoma. *Nature Commun.* 2017 May 26;8:15503. doi: 10.1038/ncomms15503. 査読有、
5. Semba H, Takeda N, Isagawa T, Sugiura Y, Honda K, Wake M, Miyazawa H, Yamaguchi Y, Miura M, Jenkins DM, Choi H, Kim JW, Asagiri M, Cowburn AS, [Abe H](#), Soma K, Koyama K, Katoh M, Sayama K, Goda N, Johnson RS, Manabe I, Nagai R, Komuro I. HIF-1 $\alpha$ -PDK1 axis-induced active glycolysis plays an essential role in macrophage migratory capacity. *Nat Commun.* 2016 May 18;7:11635. doi: 10.1038/ncomms11635. 査読有

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等  
なし

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者  
なし

(2)研究協力者  
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。