

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19644

研究課題名（和文）心臓マクロファージの老化を起点とした新たな心疾患発生機序の解明

研究課題名（英文）Impacts of Dysfunction in Cardiac Macrophage on Heart Disease

研究代表者

藤生 克仁（Fujiu, Katsuhito）

東京大学・医学部附属病院・特任准教授

研究者番号：30422306

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：心臓のマクロファージの機能低下が心臓機能に及ぼす影響がこれまで不明であったため、今回その検討を行った。心臓マクロファージは心臓へのストレスが生じた際に、受容体Tを介してそのストレスをセンシングし、その結果、分泌蛋白A、B、C、Dを分泌し、心臓に保護的に働いていることを見出した。この受容体Tをマクロファージで欠損させたマウスは、心機能が低下しており、さらに心臓ストレスによって、さらに心機能が低下しやすかった。この受容体Tはヒト心不全の心臓マクロファージでは低下しており、ヒトでもこのシステムが心不全の発症に関与している可能性が考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全は、再発を繰り返し、医療費の増加を引き起こしている疾患であり、その解決が必要である。心臓の研究は心筋細胞に着目した研究が多く、これまでの薬剤は心筋細胞が標的なものが多かった。今回心臓内に存在している心筋細胞以外の細胞に着目して、創薬に資する研究を行った。その結果新しい治療標的を発見することが出来た。今後、新しい治療標的に対する治療法の開発に役立つものと思われる。結果、健康寿命の延長や医療費の軽減に役立つことが期待できる。

研究成果の概要（英文）：Since the effect of cardiac macrophage dysfunction on cardiac function has not been known so far, this study was conducted. When stress on the heart occurs, cardiac macrophages sense the stress via receptor T, and as a result, secrete proteins A, B, C, and D, and protect the heart.

Macrophage specific receptor T knockout mice had impaired cardiac function and were more likely to be impaired by cardiac stress. This receptor T is also decreased in cardiac macrophages of human heart failure, and it is possible that this system is involved in the development of heart failure in humans.

研究分野：循環器病学

キーワード：心不全 心臓マクロファージ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々は、心臓内に約 1 - 5%程度存在する心臓レジデントマクロファージが、心機能に対して保護的に働いてことを初めて見出した。心臓に圧力負荷が生じた際に、心臓マクロファージが活性化し、さらに増殖することで心臓がその圧力負荷を乗り越えることができ、正常なストレス応答が起こる。心臓のマクロファージが活性化できないマウスを用いた場合、心不全死することを報告していた。

不全は高齢者において最大の医療費を費やしている疾患であるにも関わらず、5 年生存率 50%と生命予後の悪い疾患である。心不全の基本的病態は心臓からの拍出が低下するポンプ失調であり、それを担う細胞は心筋細胞である。これまで心不全の新しい治療標的を検討する上で、心筋細胞に着目した研究がほとんどであったが、我々は心臓マクロファージに着目している点が独創性、新規性のある点である。

しかし心臓マクロファージの心臓の基本的恒常性維持に必要であることまでは分かったが、心臓マクロファージがもとになって心不全が発症するかどうかなどは、いまだまったく不明である。

2. 研究の目的

今回我々は心不全が老化に伴って増加してくる老化関連疾患であるという観点から、心臓マクロファージが老化した際に心臓への影響がどのように変化するのかという検討を行うこととした。

まず、マウスモデルを用いて、心臓マクロファージは老化した個体ではどのように変化が生じるのかを明らかにするために、遺伝子発現変化、エピジェネティック変化などに着目し、検討を行い、老化に伴う変化の実態を把握する。また、その老化に伴う変化はどのような因子によって生じる変化かどうか、同定した老化関連因子への介入によって、心臓機能にどのような影響が出るのかを明らかにする。心不全の発症を心臓の老化ととらえ、さらにその心臓の老化は心臓の免疫系細胞の老化によってドライブされるという新しい概念を提供するとともに、新しい治療標的を同定、治療への可能性を検討することを目的とする

さらに、どのような経路によってこの心臓マクロファージの活性化が行われるのか？また、その経路が存在しているならば、その経路が障害されることがヒトで生じ、心不全などの心疾患の原因になっているのかどうかは明らかになっていない。本研究では、心臓へのストレス時に心臓マクロファージが活性化する機序について、詳細に解析を行い、さらにその経路がヒトに存在し、ヒトの心不全発症と関わっているかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

まず、培養マクロファージを用いて、心臓マクロファージが活性化した際に分泌される蛋白 A の発現量をリードアウトに、どのような上流因子が心臓マクロファージを活性化するかをスクリーニングする。そのスクリーニングによって、得られた刺激経路を欠損したマウスを作成し、*in vitro*, *in vivo* でその経路の寄与を確認する。さらに、マウスの *in vivo* で候補経路となったものについては、ヒトの健常、心不全のマクロファージでの経路の状態を調査し、心不全の原因となっている可能性があるかどうかを検討する。

4. 研究成果

心臓マクロファージの経年変化に重要な因子 X を同定することに成功した。エピジェネティック変化を惹起し得る因子 X をレンチウイルスによる CRISPR/CAS9 システムを用いたノックアウトを行ったところ、若年のマウスにおいても経年変化した心臓マクロファージを得ることが出来た。当初の研究開発では、この因子 X の同定を目的とし、その *in vivo* での効果を同定することを目的としており、この目的は達成していると考えているが、*in vivo* での効果をさらに確定させるために、マクロファージ特異的ノックアウトマウスを作成し、現在解析を続けている。

一方、心臓マクロファージの活性化機構に関する検討においては、心臓マクロファージに様々な循環器病に関係する刺激等を施した際、心臓保護的物質 A の発現量は、ほとんどの刺激に反応しなかった。しかし、刺激 S については、物質 A の発現量を有意に増加させた。同様に同培養細胞において、様々な経路のインヒビター、siRNA などによるノックダウンを行い、その経路が受容体 T を介した経路であることを同定した。

In vivo での受容体 T の心臓マクロファージでの働きを検討するために、マクロファージ特異的遺伝子 T ノックアウトマウスを作成した。このノックアウトマウスの心臓マクロファージをフローサイトメーターによって、ソーティングし、mRNAseq によって、受容体 T の心臓マクロファージにおける下流遺伝子を網羅的に検索した。その結果、これまで同定していた心臓保護的物質 A に加えて、さらに、物質 B、物質 C、物質 D が下流遺伝子であることを同定した。物質 A、B は心機能を回復させ、物質 D は心臓線維化を軽減する働きを有していた。物質 C は既知の心臓保護的物質であった。

マクロファージ特異的受容体 T 欠損マウスを用いて、この経路の働きを *in vivo* で確認を行った。その結果、心臓マクロファージは心臓へのストレスが生じた際に、受容体 T を介してそのストレスをセンシングし、その結果、分泌蛋白 A、B、C、D を分泌し、心臓に保護的に働いていることを見出した。この受容体 T をマクロファージで欠損させたマウスは、心機能が低下してお

り、さらに心臓ストレスによって、さらに心機能が低下しやすかった。

最後に、ヒトサンプルを用いた検討を行った結果、この受容体 T はヒト心不全の心臓マクロファージでは低下しており、ヒトでもこのシステムが心不全の発症に関係している可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fujiu Katsuhito, Shibata Munehiko, Nakayama Yukiteru, Ogata Fusa, Matsumoto Sahohime, Noshita Koji, Iwami Shingo, Nakae Susumu, Komuro Issei, Nagai Ryoza, Manabe Ichiro	4. 巻 23
2. 論文標題 A heart-brain-kidney network controls adaptation to cardiac stress through tissue macrophage activation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Medicine	6. 最初と最後の頁 611 ~ 622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nm.4326	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 Hayashi Aki, Yamaguchi Satoko, Waki Kayo, Fujiu Katsuhito, Hanafusa Norio, Nishi Takahiro, Tomita Hyoe, Kobayashi Haruka, Fujita Hideo, Kadowaki Takashi, Nangaku Masaomi, Ohe Kazuhiko	4. 巻 6
2. 論文標題 Testing the Feasibility and Usability of a Novel Smartphone-Based Self-Management Support System for Dialysis Patients: A Pilot Study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 JMIR Research Protocols	6. 最初と最後の頁 e63 ~ e63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2196/resprot.7105	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 Numata Genri, Amiya Eisuke, Kojima Toshiya, Fujiu Katsuhito, Hatano Masaru, Watanabe Masafumi, Komuro Issei	4. 巻 58
2. 論文標題 Cardiac Resynchronization Therapy in Patients with Ebstein's Anomaly	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International Heart Journal	6. 最初と最後の頁 816 ~ 819
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1536/ihj.16-580	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 Nakayama Yukiteru, Fujiu Katsuhito	4. 巻 59
2. 論文標題 Can Anti-inflammatory Therapy Prevent Atrial Fibrillation in Myocardial Infarction Patients?	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Heart Journal	6. 最初と最後の頁 3 ~ 5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1536/ihj.17-662	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Katsuhito Fujii
2. 発表標題 Cardiac Macrophage is Required to Avoid Heart Failure and Cardiac Sudden Death after Pressure Overload
3. 学会等名 Keystone Symposia Conference: Mitochondria, Metabolism and Heart (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Katsuhito Fujii
2. 発表標題 Cardiac Macrophage is a Novel Target of Regenerative Medicine on Arrhythmia, Regenerative Medicine and Arrhythmias
3. 学会等名 The joint meeting of the 10th Asia Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs 2017) and the 64th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society (JHRS2017) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Katsuhito Fujii
2. 発表標題 His bundle pacing for bradycardia patients
3. 学会等名 The joint meeting of the 10th Asia Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs 2017) and the 64th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society (JHRS2017) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Katsuhito Fujii
2. 発表標題 Renal Collecting Duct Epithelial Cell Controls Kidney Disease and Adaptation to Cardiac Stress through Tissue Macrophage Activation
3. 学会等名 ISN Frontiers Meetings (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----