

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02360

研究課題名(和文) 心筋組織の可塑性を検証しうる心機能回復病態モデルの樹立

研究課題名(英文) New Experimental Model of Cardiac Function Recovery

研究代表者

仙波 宏章 (SEMBA, HIROAKI)

東京大学・医学部附属病院・届出研究員

研究者番号：80747923

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：心臓のポンプ機能が失われる状態を心不全といいます。心不全の研究に用いられてきた従来の実験モデルは、心不全がどのように発症・進展していくかを解析することに適していました。本研究では、新たな実験モデルによって心不全がどのように改善・回復していくかを研究することを目指しました。そして、炎症という生体反応をつかさどるマクロファージという細胞が、心不全の発症・進展のみならず、心不全の改善・回復に対しても重要な役割を果たしていることを示しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全は、心臓のポンプ機能が失われる状態のことであり、あらゆる心臓病の終末像とも言えます。心不全の患者数は日本のみならず世界中で増え続けており、健康上の大きな問題になっています。これまでの心不全の研究は、主にその発症・進展のメカニズムについて解析するものでしたが、実際に心不全を診療する臨床の現場では改善・回復のメカニズムを解明することが求められてきました。本研究は、そのような実際の心不全診療のニーズに迫るものであり、社会的意義を有するものと考えられます。

研究成果の概要(英文)：Heart failure is a condition in which the pumping function of the heart is impaired. Traditional experimental models used to study heart failure have been suitable for analyzing how heart failure develops and progresses. In this study, we aimed to analyze how heart failure improves and recovers with a new experimental model. And we have shown that macrophages, which control inflammatory process, play an important role not only in the onset and progression but also in the improvement and recovery of heart failure.

研究分野：心不全

キーワード：心不全 心肥大 心臓線維化 心臓線維芽細胞 マクロファージ Reverse TAC

1. 研究開始当初の背景

未曾有の高齢化に伴い、本邦の心血管疾患症例は増加している。特に近年、心不全患者は増加の一途を辿り、本邦では約 200 万人にも及ぶとされている。当院も参画する東京都 CCU ネットワークの近年の報告によれば、心不全の搬送者数は既に急性心筋梗塞の搬送者数を上回っているという(年間約 5000 例 vs 4500 例)。このような心不全患者の急増は「心不全パンデミック」と呼ばれ、心不全診療は現代医療の重要課題のひとつとして位置づけられている。

心不全には、左室収縮能の低下した収縮障害性心不全(Heart Failure with reduced Ejection Fraction; HFrEF)のみならず、収縮能の保たれた拡張障害が主体の心不全(Heart Failure with preserved Ejection Fraction; HFpEF)が高率に存在することが知られている。海外の報告のみならず、本邦の循環器コホート研究においても、心不全患者の半数以上は HFpEF であることが近年示されている。しかし現在の心不全診療において、HFpEF に対する治療は不十分であると言わざるを得ない。HFrEF については、β 遮断薬・RAS 阻害薬による薬物療法や心臓再同期療法などの非薬物療法が開発され、その予後は近年飛躍的に改善した。一方で HFpEF 患者の予後を改善する有効な治療法は、未だに確立されていない。すなわち、心不全の約半数は十分な治療が施されずに放置されているとも言えるだろう。よって、我々循環器内科医にとっては、拡張障害の病態基盤である心臓線維化のメカニズムをより詳細解明し、拡張障害性心不全に対する有効な新規治療法を開発していくことが急務であると考えられた。

近年、自然炎症プロセスの持続的活性化が、心不全・心臓線維化の病態基盤として注目されるようになってきた。心不全症例では、その重症度に相関して TNF-α などの炎症性サイトカインの血中濃度が上昇している。また心移植患者の心筋組織には、線維化に伴って CD68(+)マクロファージの集積が認められる。マクロファージは炎症プロセスを活性化するものとして古くから理解されてきたが、近年の基礎研究から、マクロファージには炎症惹起型の M1・制御型の M2 などといった多様な極性があり、炎症を病態基盤とした疾患の進展にはそのようなマクロファージ亜集団が各病期においてそれぞれ固有の役割を果たしていることが示されつつある。一方で、心不全の状態にある心臓組織は、酸素の供給低下・需要増大によって著しく低酸素状態になっている。低酸素に対して細胞はそれぞれ固有の遺伝子発現応答を示すが、その応答は主に Hypoxia inducible factor (HIF) という転写因子によって調節されている。さらにこの低酸素シグナルは、細胞の低酸素応答を制御するのみならず、炎症性サイトカイン産生や NO 放出の調節を介して炎症プロセスの持続的活性化にも関与していることが近年示されてきた。このような炎症プロセス×低酸素シグナルの協調的相互作用が、心臓線維化の進展に重要であると考えられるようになった。

以上の背景から、これまで我々は炎症プロセス・低酸素シグナルという観点で心臓線維化のメカニズムを研究してきた。組織リモデリングの過程について、マクロファージを介した炎症プロセスが重要な役割を果たしていることを示した(文献#1)。マクロファージの M1・M2 といった多様な極性の亜集団は、組織リモデリングの各病期においてそれぞれ固有の役割を果たしている。我々は、M1・M2 マクロファージには低酸素誘導型転写因子 Hypoxia inducible factor (HIF)-1α・2α がそれぞれ特異的に発現し、M1・M2 固有の細胞機能を制御していることを発見した(文献#2)。さらに申請者は、M1 マクロファージの遊走能活性化に HIF-1α を介した細胞内エネルギー代謝シフトが必須であることを明らかにした(文献#3)。さらに、従来の心不全実験モデルである Transverse Aortic Constriction (TAC) を用いて心臓リモデリングの発症機構を解析し、心不全の低酸素病変組織集積する M1 マクロファージがサイトカイン Oncostatin-M を分泌し、心臓線維化の進展を予防していることを発見した(文献#4)。

このように、心臓リモデリングの過程を反映するマウス実験モデルとして、我々を含めてこれまで多くの研究者が従来の TAC モデルを用いて研究を行ない、発症進展予防につながる知見が積み重ねられてきた。しかし、リアルな臨床の現場について改めて目を向けてみるとどうだろうか。日本人の 3 人に 1 人は高血圧患者である。高血圧によって持続的圧負荷が心臓に加わると、心筋細胞の肥大・変性や間質の線維化を伴って心臓の収縮機能・拡張機能が低下し、心臓リモデリングを呈していく。ここで重要なのは、患者のほとんどは循環器内科を受診する時点で既に何らかの心不全を発症している＝心臓リモデリングを起こしてしまっていることである。よって循環器診療の現場における真のニーズは、心機能障害の「予防法」ではなく低下した心機能を正常化させる「治療法」である。しかし心機能正常化の分子機構は全く明らかになっていない。TAC モデルにより発症機構が解明されたからといって改善プロセスが分かるわけではなく、改善の過程を的確に反映する実験モデルが必要不可欠である。そこで我々は、TAC を中途解除することにより心肥大・線維化を退縮させる心機能回復病態モデル“reverse TAC”を想起し、未解決の心不全改善メカニズムを解明すべく本研究を立案した。

2. 研究の目的

臨床の現場が求める真のニーズから「心機能回復過程の分子機構を解明する」という新たな目的を着想し、新規病態モデル reverse TAC を提案したことが、本研究特有の独自性である。

3. 研究の方法

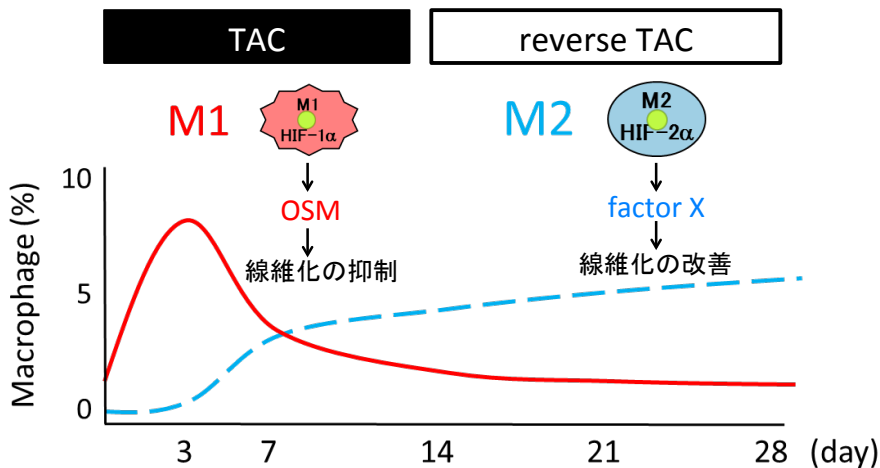
従来の実験モデルである TAC に加えて、TAC を中途解除する reverse TAC を樹立・実施し、TAC では見出せなかった心機能回復過程の分子機構について解析した。また発展的研究として、HIF- α を欠失したマウスを樹立して本研究に組み込み、網羅的遺伝子解析によって心機能回復過程に寄与する分子の同定を目指した。

4. 研究成果

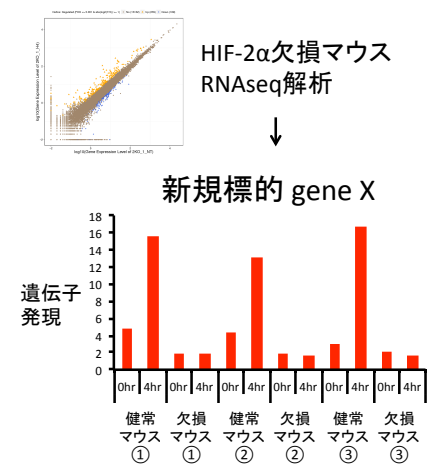
我々は、TAC による心臓への圧負荷を中途解除する新規実験モデル reverse TAC を用いた実験により、7日後に心機能の回復が得られることを確認した。さらに興味深いことに、回復期の心臓組織には炎症抑制型 M2 マクロファージが集積しており、clodronate liposome 投与によりこの M2 を除去すると心機能の改善が得られなくなることを確認した。これまでに我々は、TAC を用いた解析により、心臓に圧負荷がかかる心不全発症過程において M1 マクロファージがサイトカイン Oncostatin-M を分泌し、線維化の進展を抑制することを発見した (文献#4)。本研究の知見は、別の亜集団である M2 マクロファージが心不全回復過程において重要な役割を果たしていることを示している (左下図)。

M1・M2 マクロファージの機能的差異や病態における役割の違いは、我々がこれまでに着目していた着眼点である。我々は、M1・M2 には低酸素誘導型転写因子 Hypoxia inducible factor (HIF) -1 α ・-2 α がそれぞれ特異的に発現することによって、それぞれ固有の細胞機能が制御されていることを示してきた (文献#2)。そこで本研究では、M2 活性化に必須の転写因子 HIF-2 α を欠失したマクロファージ特異的 HIF-2 α 欠損マウスを樹立し、HIF-2 α により制御される M2 由来のいかなるシグナルが心臓線維化の消退に寄与しているのかを探索するため、低酸素刺激下における健常型及び HIF-2 α 欠失マクロファージについて網羅的遺伝子発現解析 (RNAseq) を実施した。結果、細胞分裂・蛋白質合成に関わる遺伝子 X を新規 HIF-2 α 標的遺伝子として同定した。現在この遺伝子 X について、心機能の回復過程における役割の解析を継続している (右下図、未発表データ)。

M2マクロファージが心機能回復過程に寄与している



新規HIF-2 α 標的遺伝子の探索



【引用文献】

#1 Stockmann C, Doedens A, Weidemann A, Zhang N, Takeda N, Greenberg JI, Cheresch DA, Johnson RS. "Deletion of vascular endothelial growth factor in myeloid cells accelerates tumorigenesis." *Nature*. 2008 Dec 11;456 (7223):814-8.

#2 Takeda N, O'Dea EL, Doedens A, Kim JW, Weidemann A, Stockmann C, Asagiri M, Simon MC, Hoffmann A, Johnson RS. Differential activation and antagonistic function of HIF- α isoforms in macrophages are essential for NO homeostasis. *Genes Dev*. 2010 Mar 1;24(5):491-501.

#3 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 α -PDK1 axis-induced active glycolysis plays an essential role in macrophage migratory capacity.” *Nature Communications*, 2016, 7: 11635.

#4 Abe H, Takeda N, Isagawa T, Semba H, Nishimura S, Morioka MS, Nakagama Y, Sato T, Soma K, Koyama K, Wake M, Katoh M, Asagiri M, Neugent ML, Kim JW, 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 Communications* 10, 2824, 2019

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Hajime Abe, Norihiko Takeda, Takayuki Isagawa, Hiroaki Semba, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Macrophage hypoxia signaling regulates cardiac fibrosis via Oncostatin M	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communication	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-10859-w	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 該当する
1. 著者名 Kumagai Asuka, Shimizu Kenji, Kurata Riho, Cui Xiaofeng, Isagawa Takayuki, Harada Masamitsu, Nagai Jun, Yoshida Yasuhiro, Ozaki Kei-ichi, Takeda Norihiko, Semba Hiroaki, Yonezawa Tomo	4. 巻 Volume 20, Number 1
2. 論文標題 Establishment of Novel Cells Stably Secreting Various Human IL-18 Recombinant Proteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Pharmaceutical Biotechnology	6. 最初と最後の頁 47-55(9)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1389201020666190206203640	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 -
1. 著者名 Riho Kurata, Kenji Shimizu, Xiaofeng Cui, Masamitsu Harada, Takayuki Isagawa, Hiroaki Semba, Jun Ishihara, Koji Yamada, Jun Nagai, Yasuhiro Yoshida, Norihiko Takeda, Koji Maemura, Tomo Yonezawa	4. 巻 18(1), 60
2. 論文標題 Novel Reporter System Monitoring IL-18 Specific Signaling Can Be Applied to High-Throughput Screening	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Marine Drugs	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/md18010060	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 -
1. 著者名 Masamitsu Harada, Jun Nagai, Riho Kurata, Kenji Shimizu, Xiaofeng Cui, Takayuki Isagawa, Hiroaki Semba, Jun Ishihara, Yasuhiro Yoshida, Norihiko Takeda, Koji Maemura, Tomo Yonezawa	4. 巻 18(3):161.
2. 論文標題 Establishment of Novel High-Standard Chemiluminescent Assay for NTPase in Two Protozoans and Its High-Throughput Screening	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Marine Drugs	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/md18030161	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 -

1. 著者名 Keita Okada, Daisuke Mori, Yuma Makii, Hideki Nakamoto, Yasutaka Murahashi, Fumiko Yano, Song Ho Chang, Yuki Taniguchi, Hiroshi Kobayashi, Hiroaki Semba, Norihiko Takeda, Wen Piao, Kenjiro Hanaoka, Tetsuo Nagano, Sakae Tanaka, Taku Saito	4. 巻 25;10(1):5425.
2. 論文標題 Hypoxia-inducible factor-1 alpha maintains mouse articular cartilage through suppression of NF- κ B signaling	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-62463-4	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 -

1. 著者名 Hajime Abe, Norihiko Takeda, Takayuki Isagawa, Hiroaki Semba, et al.	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Macrophage hypoxia signaling regulates cardiac fibrosis via Oncostatin M	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communication	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 該当する

1. 著者名 Matsuhama Minoru, Arimura Satoshi, Sasaki Kenichi, Semba Hiroaki, Kato Yuko, Suzuki Shinya, Uejima Tokuhisa, Yajima Junji, Yamashita Takeshi, Kunihara Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 External suture annuloplasty for mild to moderate and moderate aortic regurgitation due to an isolated type Ic lesion	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 General Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11748-019-01119-1	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 Numao Yoshimi, Suzuki Shinya, Kano Hiroto, Yajima Junji, Oikawa Yuji, Matsuno Shunsuke, Arita Takuto, Yagi Naoharu, Semba Hiroaki, Kato Yuko, Otsuka Takayuki, Uejima Tokuhisa, Yamashita Takeshi	4. 巻 34
2. 論文標題 Eleven-year temporal trends of clinical characteristics and long-term outcomes in patients undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndrome in the Shinken database	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Heart and Vessels	6. 最初と最後の頁 199 ~ 207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00380-018-1229-y	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 Kato Yuko, Suzuki Shinya, Uejima Tokuhisa, Semba Hiroaki, Arita Takuto, Yagi Naoharu, Kano Hiroto, Matsuno Shunsuke, Otsuka Takayuki, Oikawa Yuji, Matsuhama Minoru, Yajima Junji, Yamashita Takeshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Relationship between age and maximal heart rate in atrial fibrillation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Preventive Cardiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/2047487318823109	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 Arai Riku, Suzuki Shinya, Semba Hiroaki, Arita Takuto, Yagi Naoharu, Otsuka Takayuki, Sagara Koichi, Sasaki Kenichi, Kano Hiroto, Matsuno Shunsuke, Kato Yuko, Uejima Tokuhisa, Oikawa Yuji, Kunihara Takashi, Yajima Junji, Yamashita Takeshi	4. 巻 72
2. 論文標題 The predictive role of E / e on ischemic stroke and atrial fibrillation in Japanese patients without atrial fibrillation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 33 ~ 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2018.01.001	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 -

1. 著者名 Kato Yuko, Suzuki Shinya, Uejima Tokuhisa, Semba Hiroaki, Yamashita Takeshi	4. 巻 71
2. 論文標題 Variable prognostic value of blood pressure response to exercise	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 31 ~ 35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2017.07.004	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 -

1. 著者名 Arita Takuto, Suzuki Shinya, Yagi Naoharu, Otsuka Takayuki, Semba Hiroaki, Kano Hiroto, Matsuno Shunsuke, Kato Yuko, Uejima Tokuhisa, Oikawa Yuji, Matsuhama Minoru, Yajima Junji, Yamashita Takeshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Impact of Atrial Fibrillation on Falls in Older Patients: Which is a Problem, Existence or Persistence?	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of the American Medical Directors Association	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jamda.2018.10.008	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 -

1. 著者名 Aihara Kazufumi, Kato Yuko, Suzuki Shinya, Arita Takuto, Yagi Naoharu, Semba Hiroaki, Kano Hiroto, Matsuno Shunsuke, Otsuka Takayuki, Uejima Tokuhisa, Oikawa Yuji, Kunihara Takashi, Yajima Junji, Yamashita Takeshi	4. 巻 25
2. 論文標題 Prognostic value of the heart rate profile during exercise in patients with atrial fibrillation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Journal of Preventive Cardiology	6. 最初と最後の頁 1634 ~ 1641
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/2047487318797398	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 Kato Yuko, Suzuki Shinya, Uejima Tokuhisa, Semba Hiroaki, Nagayama Osamu, Hayama Etsuko, Arita Takuto, Yagi Naoharu, Kano Hiroto, Matsuno Shunsuke, Otsuka Takayuki, Oikawa Yuji, Kunihara Takashi, Yajima Junji, Yamashita Takeshi	4. 巻 25
2. 論文標題 Relationship between the prognostic value of ventilatory efficiency and age in patients with heart failure	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Journal of Preventive Cardiology	6. 最初と最後の頁 731 ~ 739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/2047487318758775	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 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Hiroaki Semba
2. 発表標題 Oncostatin M from hypoxic macrophage inhibits cardiac fibrosis in vivo
3. 学会等名 Venice Arrhythmias 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroaki Semba
2. 発表標題 Hypoxic Macrophage Derived Oncostatin-M inhibits cardiac fibrosis
3. 学会等名 33rd Annual Conference EMDS 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroaki Semba
2. 発表標題 Hypoxic macrophages suppress cardiac fibrosis via oncostatin M in vivo.
3. 学会等名 14th World Congress on Inflammation 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroaki Semba
2. 発表標題 Oncostatin-M suppresses cardiac fibrosis in vivo
3. 学会等名 The 82nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society
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
研究分担者	武田 憲彦 (Takeda Norihiko) (40422307)	自治医科大学・医学部・教授 (32202)	

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