

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：30110

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15834

研究課題名（和文）心筋炎におけるナチュラルキラーT細胞の役割の解明

研究課題名（英文）Mechanism of natural killer T cells in experimental myocarditis

研究代表者

齋藤 晶理（SAITO, Akimichi）

北海道医療大学・予防医療科学センター・講師

研究者番号：40735502

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）：未だ予後不良である拡張型心筋症の原因となりうる心筋炎においてNatural Killer T（NKT）細胞が果たす役割を検討した。実験的自己免疫性心筋炎モデルマウスを作成しNKT細胞を特異的に刺激する α -GalCerを投与し心筋障害の程度を検討したが、モデルマウスの作成が安定せず有意な差を検出できず、結果的にNKT細胞が心筋炎に及ぼす影響は確認できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究ではNKT細胞が心筋炎に果たす役割については検証できなかった。一方、同様に炎症を惹起する薬剤性心筋障害モデルにおけるNKT細胞の役割について検討を行い、 α -GalCerによるNKT細胞の活性化は炎症を制御することで心筋障害を軽減させることを明らかにし、成果を学術誌および国際学会において報告した。あらゆる心筋障害の発症・進展においてNKT細胞活性化により炎症を制御することで、心筋障害を軽減できる可能性を見出した。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to elucidate the role of natural killer T (NKT) cells in myocarditis, which could cause dilated cardiomyopathy. An experimental autoimmune myocarditis model mouse was prepared and α -Galactosylceramide (α -GalCer), which specifically stimulates NKT cells, was administered to examine the degree of myocardial damage, but the model mouse was not stable and no significant difference was found. As a result, the effect of NKT cells on myocarditis could not be confirmed.

研究分野：免疫・炎症

キーワード：ナチュラルキラーT細胞 心筋炎 薬剤性心筋障害

1. 研究開始当初の背景

心筋炎は、毒物、アルコール、寄生虫、細菌やウイルスなど様々な原因で起こり、炎症後の自己免疫性心筋炎は、進行した場合は未だ予後不良である拡張型心筋症の原因となりうる事が知られている(図1)。実験的自己免疫性心筋炎(EAM)モデルはそのような炎症を基盤とした心筋症のモデルとして用いられている。

最近、生体における炎症は、IFN- γ など Th1 サイトカインと IL-4 などの Th2 サイトカインの「Th1/Th2 バランス」によって調節されていることが明らかにされ、その制御機構の解明が急速に進展している。ナチュラルキラーT(NKT)細胞は、樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞から刺激を受け種々のサイトカインを産生する炎症細胞のひとつであるが、Th1/Th2 バランスを調節し生体における炎症を制御する「炎症調節細胞」として重要な役割を担っている。NKT 細胞による炎症制御の特徴は、相互に相手の産生するサイトカインが負のフィードバック調節をかけ Th1/Th2 バランスを適正化する点である。

これまで我々は、動脈硬化モデルマウスを用いた研究で、NKT 細胞が動脈硬化病巣に存在し、動脈硬化病巣の発症・進展に寄与することを世界で初めて見出した(Blood 2004)。我々はさらに、心筋梗塞後心不全モデルマウスを用いた研究で、心筋梗塞巣および非梗塞巣では NKT 細胞の機能低下を認め、局所での炎症が遷延することによって、心筋リモデリングが進展することを見出した。さらに、心筋梗塞後心不全モデルマウスにおいて Th1 優位にシフトした Th1/Th2 バランスが、NKT 細胞活性化作用を有する α -ガラクトシルセラミド(α -GalCer)投与によって Th2 優位へとシフトし、心筋リモデリングの進展が抑制されることを報告した(Circ Res 2012)。このような成績は、傷害組織局所での NKT 細胞の機能低下によって、負のフィードバック制御機構が破綻し、炎症遷延の基盤となっていることを示唆するものである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「心筋炎の進行過程において、NKT 細胞を中心とする免疫制御機構が破綻し、炎症が遷延する」という仮説を検証し、「NKT 細胞を活性化することで心筋炎を制御する」ことにある。心筋炎の進展における NKT 細胞の役割を明らかにし、NKT 細胞を活性化することで心筋炎および心筋炎後心筋症の発症・進展を抑制できるかを検討し、これらの成果を通して、現在特異的な治療法の存在しない心筋炎に対する新たな治療法確立に大きく貢献することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、野生型マウスに α -ミオシン H 鎖タンパクを完全フロイントアジュバントとともに投与することで EAM モデルマウスを作成し、作成したモデルマウスを生理学的・血液生化学的・組織学的手法を用いて解析する。続いて、本モデルにおける NKT 細胞の動態・機能を解析し、さらに α -GalCer 投与によって NKT 細胞を活性化することでモデルへの影響を確認する。

また、同様に心筋障害の発症・進展過程において心筋炎を惹起する薬剤性心筋障害モデルにおいて同様な手法を用いて NKT 細胞が与える影響について検討を行った。具体的には、野生型マウスにドキシソルピシンを投与し、ドキシソルピシン心筋障害モデルマウスを作成し、生理学的・血液生化学的・組織学的手法を用いて解析し、その課程における NKT 細胞の与える役割について Flow cytometry を用いて炎症細胞浸潤を評価した。さらに、 α -GalCer 投与により NKT 細胞を活性化すると、ドキシソルピシンによる心筋障害が軽減するかを検討した。

4. 研究成果

野生型マウスにおいて EAM モデルを作成するため、 α -ミオシン H 鎖タンパクを完全フロイントアジュバントとともに投与し、炎症の極期である 2 週間後、また心筋炎の完成する 4 週間後に生理学的・血液学的・組織学的手法を用いてモデル評価を行ったが、作成したモデルが安定せずいずれも有意な差を認めなかった。

しかし、一方で薬剤性心筋障害モデルにおいては、ドキシソルピシン心筋障害モデルマウスにおいて α -GalCer を用いて NKT 細胞を活性化すると、心筋における炎症・線維化を抑制することで心筋障害を軽減させることを新たに見出した。また、同モデルにおいて、 α -GalCer 投与によって心筋の NKT 細胞数は増加し、また同様に組織へのマクロファージ浸潤も増加していた。遺伝子解析により、それらのマクロファージは炎症抑制性の M2 マクロファージであることを見出した。結果としてドキシソルピシン心筋障害マウスモデルにおいて、 α -GalCer による NKT 細胞活性化は、炎症抑制性 M2 マクロファージを誘導することで心筋障害(線維化・心収縮能の低下)を軽減させることを明らかとした。

これらの成果は国際学会および国際学術誌に公表し、新規に特許を取得した。

様々な心筋障害の発症・進展において炎症が重要な役割を果たしていることが報告されており、NKT 細胞活性化によりこれらの炎症を制御することで、あらゆる原因による心筋障害を軽減できる可能性が示唆される。

今後は、今回は実証できなかった心筋炎モデルを含め、他の様々な心筋障害モデルにおいてNKT細胞の活性化により炎症を制御することで、心筋障害ひいては予後改善につながるかどうかを実証していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Obata Yoshikuni, Ishimori Naoki, Saito Akimichi, Kinugawa Shintaro, Yokota Takashi, Takada Shingo, Nakano Ippei, Kakutani Naoya, Yamanashi Katsuma, Anzai Toshihisa	4. 巻 27
2. 論文標題 Activation of invariant natural killer T cells by alpha-galactosylceramide ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Preventive Cardiology	6. 最初と最後の頁 2358 ~ 2361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/2047487319901208	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 Takahashi Masashige, Kinugawa Shintaro, Takada Shingo, Kakutani Naoya, Furihata Takaaki, Sobirin Mochamad Ali, Fukushima Arata, Obata Yoshikuni, Saito Akimichi, Ishimori Naoki, Iwabuchi Kazuya, Tsutsui Hiroyuki	4. 巻 105
2. 論文標題 The disruption of invariant natural killer T cells exacerbates cardiac hypertrophy and failure caused by pressure overload in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental Physiology	6. 最初と最後の頁 489 ~ 501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/EP087652	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 Nambu Hideo, Takada Shingo, Fukushima Arata, Matsumoto Junichi, Kakutani Naoya, Maekawa Satoshi, Shirakawa Ryosuke, Nakano Ippei, Furihata Takaaki, Katayama Takashi, Yamanashi Katsuma, Obata Yoshikuni, Saito Akimichi, Yokota Takashi, Kinugawa Shintaro	4. 巻 866
2. 論文標題 Empagliflozin restores lowered exercise endurance capacity via the activation of skeletal muscle fatty acid oxidation in a murine model of heart failure	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 172810 ~ 172810
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2019.172810	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 Shirakawa Ryosuke, Yokota Takashi, Nakajima Takayuki, Takada Shingo, Yamane Miwako, Furihata Takaaki, Maekawa Satoshi, Nambu Hideo, Katayama Takashi, Fukushima Arata, Saito Akimichi, Ishimori Naoki, Dela Flemming, Kinugawa Shintaro, Anzai Toshihisa	4. 巻 9
2. 論文標題 Mitochondrial reactive oxygen species generation in blood cells is associated with disease severity and exercise intolerance in heart failure patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-51298-3	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 Nambu Hideo, Takada Shingo, Maekawa Satoshi, Matsumoto Junichi, Kakutani Naoya, Furihata Takaaki, Shirakawa Ryosuke, Katayama Takashi, Nakajima Takayuki, Yamanashi Katsuma, Obata Yoshikuni, Nakano Ippei, Tsuda Masaya, Saito Akimichi, et al.	4. 巻 117
2. 論文標題 Inhibition of xanthine oxidase in the acute phase of myocardial infarction prevents skeletal muscle abnormalities and exercise intolerance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cardiovascular Research	6. 最初と最後の頁 805 ~ 819
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cvr/cvaa127	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 Saito Akimichi, Ishimori Naoki, Tokuhara Satoshi, Homma Tsuneaki, Nishikawa Mikito, Iwabuchi Kazuya, Tsutsui Hiroyuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Activation of Invariant Natural Killer T Cells by α -Galactosylceramide Attenuates the Development of Angiotensin II-Mediated Abdominal Aortic Aneurysm in Obese ob/ob Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cardiovascular Medicine	6. 最初と最後の頁 411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcvm.2021.659418	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10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Hideo Nambu, Shingo Takada, Arata Fukushima, Naoya Kakutani, Satoshi Maekawa, Ryosuke Shirakawa, Takaaki Furihata, Akimichi Saito, Takashi Yokota, Shintaro Kinugawa
2. 発表標題 Empagliflozin restores lowered exercise endurance capacity via the activation of skeletal muscle fatty acid oxidation in murine heart failure
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Obata Yoshikuni, Naoki Ishimori, Akimichi Saito, Shintaro Kinugawa, Ippei Nakano, Naoya Kakutani, Katsuma Yamanashi, Toshihisa Anzai
2. 発表標題 Activation of invariant natural killer T cells by α -galactosylceramide ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice
3. 学会等名 European Society of Cardiology Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Obata Yoshikuni, Naoki Ishimori, Akimichi Saito, Shintaro Kinugawa, Ippei Nakano, Naoya Kakutani, Katsuma Yamanashi, Toshihisa Anzai
2. 発表標題 Activation of invariant natural killer T cells by alpha-galactosylceramide ameliorates doxorubicin-induced cardiomyopathy in mice.
3. 学会等名 CD1-MR1: Beyond MHC restricted lymphocytes (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nambu H, Takada S, Maekawa S, Matsumoto J, Kakutani N, Shirakawa R, Katayama T, Yamanashi K, Obata Y, Furihata T, Saito A, Yokota T, Kinugawa S, Anzai T
2. 発表標題 Inhibition of Xanthine Oxidase in the Acute Phase Preserves Mitochondrial Function in Skeletal Muscle and Exercise Capacity in Heart Failure After Myocardial Infarction
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Furihata T, Kinugawa S, Takada S, Maekawa S, Katayama T, Shirakawa R, Nambu H, Obata Y, Yamanashi K, Kakutani N, Saito A, Fukushima A, Yokota T, Anzai T
2. 発表標題 The Outer Mitochondrial Membrane Protein, mitoNEET, Sustains Structure of Mitochondrial Cristae
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shirakawa R, Yokota T, Nakajima T, Takada S, Yamane M, Saito A, Maekawa S, Kakutani N, Furihata T, Matsumoto J, Tsuda M, Katayama T, Nambu H, Yamanashi K, Obata Y, Nakano I, Fukushima A, Kinugawa S, Anzai T
2. 発表標題 Excessive Mitochondrial Reactive Oxygen Species Emission From Circulating Blood Cells is Associated With Systemic Oxidative Stress, Severity of Heart Failure, and Exercise Intolerance
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nambu H, Takada S, Fukushima A, Matsumoto J, Kakutani N, Maekawa S, Shirakawa R, Furihata T, Nakajima T, Katayama T, Tsuda M, Saito A, Yokota T, Kinugawa S, Anzai T
2. 発表標題 Empagliflozin improves exercise endurance via the activation of fatty acid oxidation in the skeletal muscle in murine model of post-infarct heart failure
3. 学会等名 European Society of Cardiology Congress 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shirakawa R, Yokota T, Nakajima T, Takada S, Yamane M, Furihata T, Matsumoto J, Tsuda M, Katayama T, Maekawa S, Nambu H, Fukushima A, Saito A, Kinugawa S, Anzai T
2. 発表標題 Excessive mitochondrial reactive oxygen species emission from circulating blood cells is associated with severity of heart failure and exercise intolerance
3. 学会等名 European Society of Cardiology Congress 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Obata Y, Ishimori N, Saito A, Kinugawa S, Nakano I, Kakutani N, Yamanashi K, Anzai T
2. 発表標題 Activation of invariant natural killer T cells by alpha-galactosylceramide ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice.
3. 学会等名 European Society of Cardiology Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Obata Y, Ishimori N, Saito A, Kinugawa S, Nakano I, Kakutani N, Yamanashi K, Anzai T
2. 発表標題 Activation of invariant natural killer T cells ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity.
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 - ガラクトシルセラミド及び/又は - ガラクトシルセラミドで パルスされた樹状細胞 を含有する医薬組成物	発明者 石森直樹、安斉俊 久、絹川真太郎、齋 藤晶理、尾畑嘉一	権利者 国立大学法人北 海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-038450	取得年 2020年	国内・外国の別 国内

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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