

令和 4 年 4 月 27 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03648

研究課題名（和文）メカノエイジングによる心不全発症機序解明と治療法開発

研究課題名（英文）Mechano-aging in heart failure

研究代表者

眞鍋 一郎（Manabe, Ichiro）

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：70359628

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：心不全患者はパンデミックと捉えられるほど急増している。特に線維化等による心臓組織の改変が高齢者心不全には重要であり、新たな観点からの心不全分子機序の解明と治療法の開発が喫緊の課題となっている。我々は、機械的なストレス（メカニカルストレス）と加齢（エイジング）への応答機構が様々なレベルで連結していると考えた。メカニカルストレスとエイジング応答の連鎖による心機能障害を「メカノエイジング」と捉え、新しい心不全発症機序を明らかにすることを目的として研究を進めた。その結果、メカニカルストレスとエイジングに共通する心臓組織マクロファージの変化や、その変化によって心臓恒常性を変調させるメディエータを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の心不全の研究は主に心筋細胞に着目していたが、急増している高齢者の心不全では心臓組織のリモデリングが特徴であり、心筋細胞に加えて、線維芽細胞や内皮細胞、マクロファージを始めとする免疫細胞の相互作用によって形成されると考えられる。本研究では、メカニカルストレスと加齢で共通してみられる心臓の変化について、特に細胞間のコミュニケーションに着目して検討を進めた。その結果、心臓組織マクロファージの変化を見だし、心臓恒常性の変調をもたらす可能性が高いマクロファージ由来のメディエータを同定した。マクロファージの変化や同定した分子の解析を進めることによって、新たな診断治療標的を同定できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The number of heart failure patients is increasing worldwide. In particular, the remodeling of cardiac tissues, such as fibrosis, is important for the development of heart failure in the elderly. The elucidation of the molecular mechanisms of heart failure from a new perspective and the development of therapeutic methods are needed. We hypothesized that the responsive mechanisms to mechanical stress and aging are linked at various levels. We coined the interaction between mechanical stress response and aging as "mechano-aging" and conducted research with the aim of elucidating a new mechanism for the onset of heart failure. As a result, we identified changes in cardiac tissue macrophages that are shared between mechanical stress and aging, and the mediators that modulate cardiac homeostasis by these changes.

研究分野：循環器内科学

キーワード：メカノバイオロジー メカニカルストレス 心不全 マクロファージ 線維芽細胞 心筋細胞 老化慢性炎症

1. 研究開始当初の背景

心不全はパンデミックと捉えられるほどに急増しており、国民の健康寿命を大きく損なっている。特に高齢者では、新しいタイプの心不全(駆出率が保たれた心不全[Heart Failure with preserved Ejection Fraction : HFpEF])に代表される組織リモデリング(線維化を始めとする組織構築の改変)を背景とした心不全が多くを占めるが、従来の薬剤は無効であり、新たな観点からの心不全分子機序の解明し新規治療法を開発することが強く求められている。

健全な高齢者の機能の維持された心臓においても、心筋細胞肥大や線維化を中心とした組織リモデリングが進行していることが知られている。心臓は常時拍動を続けるポンプであり、その収縮によって絶えず物理的・機械的なストレスに曝され続けていることから、年余に続くメカニカルストレスへの応答が、加齢に伴うリモデリングの主因の一つと考えられる。一方で、老化は多様な全身的・局所的变化をもたらす。例えば、老化は慢性炎症を引き起こしやすくする(inflammaging、炎症老化)が、慢性炎症は組織リモデリングの主要な推進機構である。このように、メカニカルストレスへの応答と加齢変化は、相互に関連しながら、心臓組織リモデリングを誘導し、心臓恒常性の変容、機能障害、さらには心不全をもたらすと推察される。本研究では、メカニカルストレスとエイジング応答のクロストークと連鎖・拡大による組織機能障害の進展を「メカノエイジング」と捉え、新しい心不全発症機序を明らかにすることを旨とした(図1)。

我々はこれまでに心臓線維芽細胞、マクロファージがメカニカルストレス(圧負荷)に対する心臓の応答に必須の役割を担うことを報告してきた(JCI 2010, 2011, Nat Med 2017)。心臓線維芽細胞やマクロファージは一方でストレスに対して心臓を保護する機能を示すが、他方で心臓線維化やリモデリングにも主要な役割を果たすことが知られている。老化におけるこれらの細胞の役割はあまりよく分かっていないが、これらの機能変調は、心臓組織の恒常性を損なう可能性がある。

これまでの心不全研究や心臓のメカノバイオロジーは、主に心筋細胞に焦点を合わせたものであった。

しかし、心筋リモデリングを進める主要な細胞は線維芽細胞やマクロファージ等の非心筋細胞である。心筋細胞と非心筋細胞の間には絶えざるコミュニケーションがあるが、その意義と機序はよく分かっていない。さらに時間軸の中で、各細胞の関係性は常に変動する。近年の1細胞解析技術の進歩は、個々の細胞が絶えず相互作用している細胞社会を解き明かす強力な手法を与えつつある。本研究では、1細胞解析を始めとする次世代シーケンサー(NGS)解析技術を用いることにより、心臓という場(空間)の各部位で、同時に進行し時間とともに変容する細胞コミュニケーションを解析することにより、メカノエイジングの実行機序を明らかにすることを旨とした。

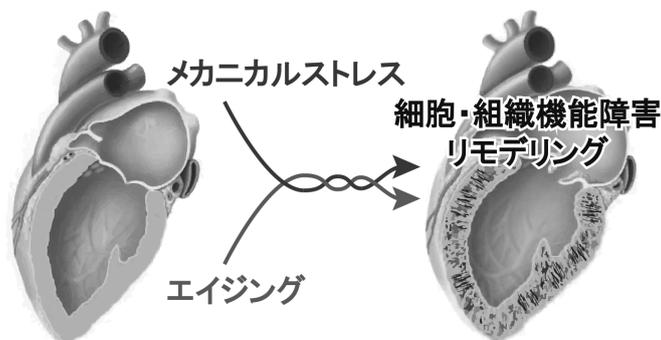


図1 メカノエイジングによる心不全発症

2. 研究の目的

本研究では、メカノエイジングによる心不全発症機序を明らかにするとともに、新規治療標的の同定と評価を行うことを目的とした(図2)。具体的には、①メカニカルストレスとエイジングシグナルの交叉点の可能性が高く、メカノエイジングを駆動するエピジェネティックな分子機構、②メカノエイジングの要である組織リモデリングを実行する多細胞間コミュニケーションの解明をめざした。本研究ではリモデリングや心不全を推進するメカノエイジング機序について、エピジェネティクスと多細胞間コミュニケーションのダイナミズムを、1細胞解析技術を始めとする

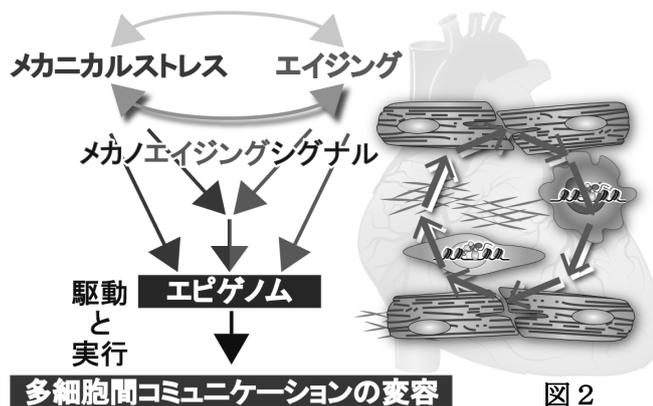


図2

NGS 解析を駆使し、時空間の中で解き明かす。

3. 研究の方法

本研究では、新たな心不全分子機序の解明と治療戦略開発を目指し、メカニカルストレスとエイジングへの応答が交叉するエピゲノム制御と、組織リモデリングを実行する多細胞間コミュニケーションの解明をめざした。メカニカルストレスとエイジングシグナルの受容からエピゲノム制御までの分子機序について、心筋細胞、マクロファージ、線維芽細胞において解析した。

①メカノエイジングシグナルにตอบสนองするエピゲノム制御機序の解析

メカノエイジングシグナルの受容とそれに応じたエピジェネティックな制御機序の解析を進めた。同定済みのメカノセンサーの機能解析を行うと共に、新規メカノセンサーの同定も試みた。

メカノエイジングによるエピジェネティクス制御については、まずグローバルなエピゲノム変動を解析した。in vitro での伸展刺激（ストレッチ）、in vivo では横行大動脈結紮（Transverse Aortic Constriction、TAC）を用いたマウス心臓に対する圧負荷、また老化マウスを用いて、心筋細胞、心臓マクロファージ、線維芽細胞における bulk RNA-seq によるトランスクリプトーム解析、ATAC-seq によるオープンクロマチン解析を行い、クロマチン・エンハンサー・転写のグローバルな変動を解析した。

Bulk 解析では、周辺細胞とのコミュニケーションを含む場所の情報が取得できないことから、1細胞トランスクリプトーム解析も同時に進めた。細胞間相互コミュニケーションを解析した。多細胞間コミュニケーションのダイナミズムを解析するために、定常状態に加えて TAC 後の解析や老化マウスを用いた解析を行った。

②メカノエイジングを実行する多細胞間コミュニケーションの解析

メカノエイジングシグナルへの多細胞間相互作用による応答と、メカノエイジングの主要な変化である組織リモデリングを実行する機序を明らかにすることを目的とした。細胞間コミュニケーションの心臓生物学的意義を解析するために、ex vivo、in vivo 解析を組み合わせた研究を行った。

4. 研究成果

①メカノエイジングシグナルにตอบสนองするエピゲノム制御機序の解析

心臓圧負荷(TAC)と老化によるトランスクリプトームの変化を bulk RNA-seq により解析したところ、老化マウスの心臓マクロファージは、定常状態でも圧負荷を与えた若年心臓マクロファージと類似したトランスクリプトームを発現することを見いだした(図3)。また、心臓ならびに培養マクロファージの伸展刺激と、心臓や骨髄の単球・マクロファージにおける老化でのクロマチンアクセシビリティを ATAC-seq により解析した。その結果、メカニカルストレスと老化に共通したエピゲノムの変動が起きることが示唆された(図4)。即ち、エピゲノム制御のレベルで、メ

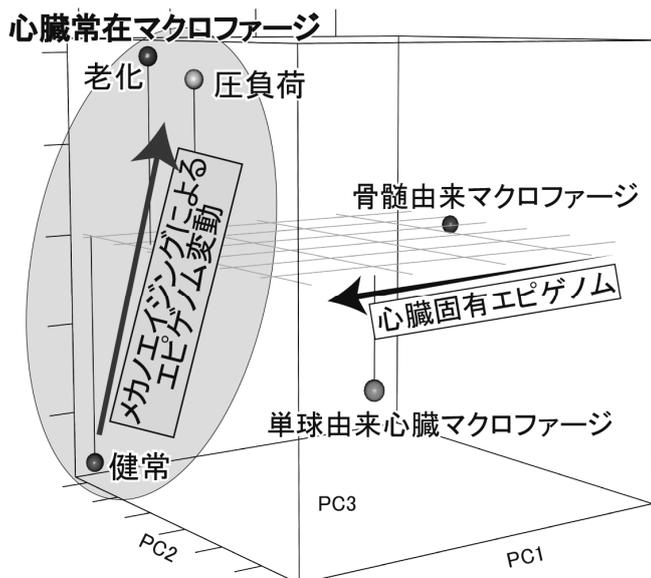


図3 圧負荷と老化は心臓組織マクロファージの遺伝子発現に共通した変化をもたらす RNA-seq によるトランスクリプトームの主成分分析。圧負荷と老化は類似した変化をもたらす。

(Transverse Aortic Constriction、TAC) を用いたマウス心臓に対する圧負荷、また老化マウスを用いて、心筋細胞、心臓マクロファージ、線維芽細胞における bulk RNA-seq によるトランスクリプトーム解析、ATAC-seq によるオープンクロマチン解析を行い、クロマチン・エンハンサー・転写のグローバルな変動を解析した。

Bulk 解析では、周辺細胞とのコミュニケーションを含む場所の情報が取得できないことから、1細胞トランスクリプトーム解析も同時に進めた。細胞間相互コミュニケーションを解析した。多細胞間コミュニケーションのダイナミズムを解析するために、定常状態に加えて TAC 後の解析や老化マウスを用いた解析を行った。

②メカノエイジングを実行する多細胞間コミュニケーションの解析

メカノエイジングシグナルへの多細胞間相互作用による応答と、メカノエイジングの主要な変化である組織リモデリングを実行する機序を明らかにすることを目的とした。細胞間コミュニケーションの心臓生物学的意義を解析するために、ex vivo、in vivo 解析を組み合わせた研究を行った。

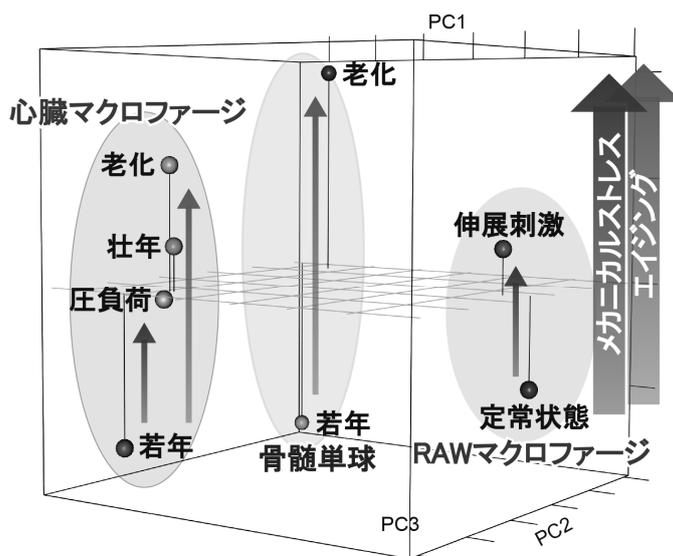


図4 メカニカルストレスと老化は類似したエピゲノム変動をもたらす ATAC-seq によるオープンクロマチン領域を主成分分析した結果を示す。どの細胞でも同方向(PC3 成分)のエピゲノム変動をもたらすことが分かる。

メカニカルストレスと老化に共通したエピゲノムの変動が起きることが示唆された(図4)。即ち、エピゲノム制御のレベルで、メ

カニカルストレスとエイジングシグナルは、マクロファージや骨髄単球に共通した変動をもたらしており、シグナル・エピゲノム経路の広範なクロストークが示唆された。

TAC と老化マウスにおける心臓免疫細胞ならびに線維芽細胞の 1 細胞 RNA-seq (scRNA-seq) を行った。その結果、マクロファージや線維芽細胞に従来知られていなかった多様性が存在することを見いだした。

同定済みのメカノセンサーについては、遺伝子改変マウスを用いた解析を行い、マクロファージのメカノセンサーが心臓恒常性の維持に必須であることを明らかにした。

②メカノエイジングを実行する多細胞間コミュニケーションの解析

scRNA-seq の結果を用いて細胞間相互作用解析を行い、マクロファージや線維芽細胞のサブpopulation間の相互作用の強度を検討した。これらの解析により、マクロファージから分泌され線維芽細胞を制御するメディエータ候補を複数同定した。これらの一部は TAC と老化マウスで共通して発現変動しており、遺伝子改変や薬物的介入により機能解析を進めた。

心筋細胞、マクロファージや線維芽細胞の共培養系を用い、細胞間相互作用解析が可能な系を確立した。この系を用いて、上述したメディエータの機能解析を行い、マクロファージから分泌され線維芽細胞機能を制御する分子を同定した。また、RNA-seq 等により共培養による各細胞の機能変化を解析し、細胞間相互作用が心臓に特有な機能を各細胞に付与する上で重要であることを見いだした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Fujiu Katsuhito, Manabe Ichiro	4. 巻 34
2. 論文標題 Nerve-macrophage interactions in cardiovascular disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 81～95
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxab036	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 Liu Lin, Koike Hiroyuki, Ono Takehito, Hayashi Shinichiro, Kudo Fujimi, Kaneda Atsushi, Kagechika Hiroyuki, Manabe Ichiro, Nakashima Tomoki, Oishi Yumiko	4. 巻 118
2. 論文標題 Identification of a KLF5-dependent program and drug development for skeletal muscle atrophy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2102895118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2102895118	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 Sugita Junichi, Fujiu Katsuhito, Nakayama Yukiteru, Matsubara Takumi, Matsuda Jun, Oshima Tsukasa, Liu Yuxiang, Maru Yujin, Hasumi Eriko, Kojima Toshiya, Seno Hiroshi, Asano Keisuke, Ishijima Ayumu, Tomii Naoki, Yamazaki Masatoshi, Kudo Fujimi, Sakuma Ichiro, Nagai Ryoza, Manabe Ichiro, Komuro Issei	4. 巻 12
2. 論文標題 Cardiac macrophages prevent sudden death during heart stress	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1910
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-22178-0	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 Nakayama Yukiteru, Fujiu Katsuhito, Yuki Ryuzaburo, Oishi Yumiko, Morioka Masaki Suimye, Isagawa Takayuki, Matsuda Jun, Oshima Tsukasa, Matsubara Takumi, Sugita Junichi, Kudo Fujimi, Kaneda Atsushi, Endo Yusuke, Nakayama Toshinori, Nagai Ryoza, Komuro Issei, Manabe Ichiro	4. 巻 117
2. 論文標題 A long noncoding RNA regulates inflammation resolution by mouse macrophages through fatty acid oxidation activation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 14365～14375
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2005924117	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 Oishi Yumiko, Manabe Ichiro	4. 巻 7
2. 論文標題 Organ System Crosstalk in Cardiometabolic Disease in the Age of Multimorbidity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cardiovascular Medicine	6. 最初と最後の頁 64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcvm.2020.00064	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26件 (うち招待講演 26件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 Organ crosstalk and macrophage in cardiovascular homeostasis and multimorbidity
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 Macrophage diversity in age-associated cardiovascular disease
3. 学会等名 第86回日本循環器学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 循環・神経・免疫系の連携による恒常性の維持と破綻
3. 学会等名 第43回日本血栓止血学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ichiro Manabe
2. 発表標題 Neuro-Immune-Metabolic Regulation of Cardiac Homeostasis and Disease
3. 学会等名 上原国際シンポジウム2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 細胞多様性と心血管疾患
3. 学会等名 第39回日本内分泌学会 内分泌代謝学サマーセミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ichiro Manabe
2. 発表標題 Immunometabolic control in macrophages
3. 学会等名 The 10th International Congress on Lipid & Atherosclerosis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 心不全における造血 - マクロファージコンティニューム
3. 学会等名 生体機能と創薬シンポジウム2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 循環・代謝・神経・免疫系の連携による恒常性維持と心血管疾患
3. 学会等名 第53回日本動脈硬化学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 心 脳－腎連関
3. 学会等名 第74回日本自律神経学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ichiro Manabe
2. 発表標題 Immunometabolic Regulation of Macrophages in Cardiovascular Disease
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ichiro Manabe
2. 発表標題 Macrophage diversity in the organ crosstalk and multimorbidity
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 Macrophage diversity in cardiovascular homeostasis and multimorbidity
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Manabe I
2. 発表標題 Macrophages in the cardiovascular organ crosstalk and mulbimorbidity
3. 学会等名 International Society for Applied Cardiovascular Biology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Manabe I
2. 発表標題 Macrophages and organ crosstalk in homeostasis and multimorbidity
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第98回日本生理学会大会 合同大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Manabe I
2. 発表標題 Age-associated alterations in macrophage populations and functions modulate cardiac homeostasis and promote remodeling.
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Manabe I
2. 発表標題 The hematopoietic continuum and macrophages in heart failure and multimorbidity
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Manabe I
2. 発表標題 Functional Diversity and modulation of macrophages in organ crosstalk and cardiovascular disease.
3. 学会等名 International Vascular Biology Meeting 2020（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Manabe I
2. 発表標題 5.Macrophages and Organ System Crosstalks in Cardiac Homeostasis and Disease
3. 学会等名 BCVR2019: The 3rd JCS Council Forum of Basic Cardiovascular Research（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真鍋一郎
2. 発表標題 老化関連疾患における組織マクロファージ
3. 学会等名 第16回脳心血管抗加齢研究会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真鍋一郎
2. 発表標題 Macrophages in cardiac biology and pathobiology
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真鍋一郎
2. 発表標題 肥満による臓器システム関連系の変調と心血管代謝疾患
3. 学会等名 第40回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真鍋一郎
2. 発表標題 心臓組織マクロファージによるストレス応答と破綻
3. 学会等名 第92回日本生化学大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真鍋一郎
2. 発表標題 免疫・代謝・神経連関とマクロファージによるストレス応答と修復
3. 学会等名 第40回日本・炎症再生医学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真鍋一郎
2. 発表標題 組織マクロファージと臓器連関によるストレス応答機構
3. 学会等名 第28回日本Cell Death学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Manabe I
2. 発表標題 Macrophages in Cardiac Physiology and Disease
3. 学会等名 The 26th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真鍋一郎
2. 発表標題 心腎脳連関と恒常性維持機構
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

http://plaza.umin.ac.jp/manabe

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	藤生 克仁 (Fujiu Katsuhito) (30422306)	東京大学・医学部附属病院・特任准教授 (12601)	

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