

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：13201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06195・19K21300

研究課題名（和文）肥満心筋症の病態形成におけるCD206陽性M2マクロファージの意義の検討

研究課題名（英文）Examination of the significance of CD206-positive M2 macrophages in the pathogenesis of obese cardiomyopathy

研究代表者

劉建輝（Liu, Jianhui）

富山大学・学術研究部医学系・特命助教

研究者番号：80828640

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では肥満心筋症の病態形成におけるCD206陽性M2マクロファージの意義の検討を目的とした。結論としてM2マクロファージは肥満心筋症の病初期の脂肪組織における血管増生と肥満心筋症の終末像である心臓での間質繊維化亢進に対し保護的に作用することが示唆された。また肥満心筋症の表現型である心臓での間質繊維化亢進の結果で生じる心筋肥大およびその終末像である心不全に対し、サルコメア遺伝子と線維化関連遺伝子の制御に通じて、保護的に作用し心不全治療の有望な治療標的になりうるということが強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

M2マクロファージは肥満心筋症の病初期の脂肪組織における血管増生と肥満心筋症の終末像である心臓での間質繊維化亢進に対し保護的に作用することが示唆された。肥満心筋症の表現型である心臓での間質繊維化亢進の結果で生じる心筋肥大およびその終末像である心不全に対し、サルコメア遺伝子と線維化関連遺伝子の制御に通じて、保護的に作用し心不全治療の有望な治療標的になりうるということが強く示唆された。本研究を通して学術的には“局所マクロファージ機能不全関連疾患”の概念が確立され、循環器医学・生物学に貢献するとともに社会的には局所マクロファージを標的にした治療の可能性が生まれ、臨床医学の発展に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to investigate the significance of CD206-positive M2 macrophages in the pathogenesis of obese cardiomyopathy. In conclusion, it is suggested that M2 macrophages have a protective effect on hypervascularization in adipose tissue in the early stage of obesity cardiomyopathy and interstitial hyperfibrosis in the heart, which is the terminal image of obesity cardiomyopathy. In addition, it protects against myocardial hypertrophy that results from increased interstitial fibrosis in the heart, which is a phenotype of obese cardiomyopathy, and heart failure, which is its terminal image, through the regulation of sarcomere genes and fibrosis-related genes, and has a protective effect. It was strongly suggested that it could be a promising therapeutic target for the treatment of heart failure.

研究分野：内科学

キーワード：マクロファージ 心不全 心筋症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### 1) 肥満心筋症の臨床的意義と病態

近年心不全パンデミックのリスクが叫ばれ、医学・医療のみならず社会的課題となっている。食生活の欧米化による高脂肪食の過剰摂取と社会の高齢化が世界的に共通する心不全の増悪要因であるが、特に前者が関与した病態の代表が肥満心筋症 (obesity cardiomyopathy) である。肥満心筋症とは、高度肥満患者で観察され、末期には心不全を呈する病態である。病初期には過剰な脂肪組織の血管増生による血流増加とアディポサイトカインの影響による末梢血管抵抗低下が起こり、それに対して代償的高拍出状態となる。この段階では、左室駆出率 (LVEF) の保持された heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) と判断される場合も多い。平行して心臓では間質の慢性炎症による繊維化の結果の拡張障害、心筋細胞内への脂質蓄積による収縮障害により代償反応が破綻する。さらに心筋リモデリングも加わり、終末像では虚血性心疾患 (IHD) を伴わないのにも関わらず LVEF が低下し heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF) となる。一部の症例では糖尿病性心筋症 (DMCM) との鑑別が困難であるが、DMCM では病初期から心筋の線維化が先行し拡張障害が優位となる点で異なる。

#### 2) 肥満心筋症への M2 マクロファージの関与

肥満心筋症の病態においては、末梢組織である肥満組織における血流増加および血管抵抗低下と、心筋における代償的高拍出状態とその破綻に寄与する慢性炎症・繊維化亢進・心筋内脂肪蓄積とが平行して起こる。M2 マクロファージは、脂肪組織での慢性炎症において中心的役割を果たし、Tgf- $\beta$ 1 の発現を介して心筋拡張障害の進展に寄与しうるため、このような病態を説明しうる因子の候補となりうる。しかしながら従来、肥満心筋症における M2 マクロファージについては十分な検討がなされてこなかった。我々は、M2 マクロファージが肥満心筋症の病態成立において中心的役割を果たしており、新規の治療ターゲットとなりうるかについて検討したいと考えた。

### 2. 研究の目的

目的 1: M2 マクロファージの活性化による脂肪組織での血管増生・血流増加・末梢血管抵抗の低下と、M2 マクロファージの除去・機能改変による改善を検証すること

目的 2: M2 マクロファージの活性化による心筋組織での慢性炎症・繊維化亢進・心筋内脂肪蓄積と、M2 マクロファージの除去・機能改変による改善を検証すること

### 3. 研究の方法

検討 1: 任意のタイミングでの M2 マクロファージの除去を可能にした遺伝子改変マウス (CD206DTR) に、高脂肪食負荷 (HFD) を加える。経時的に脂肪組織の血管新生・血流量および末梢血管抵抗、心筋組織の肥厚・繊維化および心機能について評価を行う中で、任意のタイミングで CD206(+)M2 マクロファージの除去もしくは curcumin 投与による増加を行う。

検討 2: M2 マクロファージ特異的に任意のタイミングで Tgf- $\beta$ 1 遺伝子を欠損可能な CD206-CreERT2;Tgf- $\beta$ 1flox/flox マウスに HFD および HFD+cardiotoxin を加えて心筋傷害を起こし、その後 Tgf- $\beta$ 1 遺伝子を欠損させることにより、心筋の形態的・機能的状態がどのように変化するかを通して、HFD による線維化亢進および心筋線維化の分子機構を解明する。

検討 3: 上記の CD206 関連の遺伝子改変マウスを用いて、病初期に末梢血管抵抗調整作用が期待される遮断剤を、終末期に心筋リモデリングへの効果が期待される RAS 系阻害剤を投与し、その効果を検証することで新知見および、新規の治療戦略の開拓につなげる。

### 4. 研究成果

初年度では、CD206DTR マウスとワイルドタイプマウスにおいて検討した。高脂肪食誘導の肥満マウスの心臓では、M2 マクロファージの除去により、心筋症関連遺伝子、血管新生と線維化マーカーの増悪傾向が認められた。次年度においては、CD206 遺伝子を欠損させた CD206KO マウス (KO 群) とワイルドタイプマウス (WT 群) において検討した。6 週齢から 12 週に亘り普通食を投与して飼育した。18 週齢に心臓を摘出し、心尖部から RNA を抽出し、qPCR 法にて KO 群と WT の二群に分けて遺伝子発現レベルを検討した。全体を通して、WT 群に比して KO 群では、M2 マクロファージマーカー発現の低下が認められた。M マーカー F4/80 と M1 マーカー CD11c & TNFa と CD206 以外の M2 マクロファージマーカー発現の上昇が認められた。線維化遺伝子の発現上昇、

Col1a1、Col3a1、Col4a1 と TGF 1、TGF 2、TGF 3 と ACTA2 が認められた。マトリックス関連遺伝子の発現上昇、mmp7、mmp12、timp1 が認められた。心不全関連遺伝子の BNP および AT の上昇が認められた。今回我々は CD206KO マウスでは心筋肥大および線維化関連遺伝子の発現亢進が進行してくることを観察した。以上より M2 マクロファージは肥満心筋症の病初期の脂肪組織における血管増生と肥満心筋症の終末像である心臓での間質繊維化亢進に対し保護的に作用することが示唆された。また肥満心筋症の表現型である心臓での間質繊維化亢進の結果で生じる心筋肥大およびその終末像である心不全に対し、サルコメア遺伝子と線維化関連遺伝子の制御に通じて、保護的に作用し心不全治療の有望な治療標的になりうることが強く示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Liu Jianhui, Yagi Kunimasa, Nohara Atsushi, Chujo Daisuke, Ohbatake Azusa, Fujimoto Aya,	4. 巻 12
2. 論文標題 High frequency of type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in Japanese subjects with the	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Lipidology	6. 最初と最後の頁 331 ~ 337
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jacl.2017.12.011	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 劉建輝、八木邦公、Muhammad Bilal、桑野剛英、渡邊善之、西村歩、Allah Nawaz、五十嵐喜子、角朝信、岡部圭介、藤坂志帆、中川崇、戸邊一之
2. 発表標題 肥満心筋症の病態形成におけるマクロファージの関与についての検討
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八木邦公、岡崎智子、大畠 梓、劉 建輝、朴木久恵、藤坂志帆、小堀健一、筋 也寸志、袖本幸男、戸邊一之
2. 発表標題 MELAS3243 変異を有する糖尿病 7 症例の剖検臓器の変異率の検討.
3. 学会等名 第 91 回日本内分泌学会学術総会
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
---------------------------	-----------------------	----