

令和 5 年 4 月 19 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08418

研究課題名(和文) 心臓マクロファージ機能に着目し新たな拡張不全治療アプローチを開発する

研究課題名(英文) The roles of macrophages in cardiac remodeling

研究代表者

武田 憲彦 (Takeda, Norihiko)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：40422307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：心臓はポンプとして収縮と拡張を繰り返すことで全身に血液を駆出しているが、その機能が低下すると心不全と呼ばれる致死的病態が引き起こされる。特に心臓線維化は心臓の拡張機能を低下させ、また不整脈の原因となることから、その病態に深く関わっていると考えられている。しかしながらなぜ心臓が過剰に線維化するのか、その原因は未だ明らかではない。本研究では心臓に集積する炎症細胞であるマクロファージに着目し、心臓線維化の病態解明に取り組んだ。培養細胞を用いた解析から、心臓線維化を抑制する可能性があるサイトカインの絞り込みを行うことが出来た。今後は個体レベルでの解析が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では心臓に集積する炎症細胞であるマクロファージに着目し、心不全、心臓線維化の病態形成に関わる炎症性サイトカインの探索を行った。その結果、心臓線維化を抑制する可能性のあるサイトカイン候補を抽出することが出来た。引き続き様々な病態モデルを用いた解析を行うことで、心臓線維化の病態における炎症性サイトカインの役割を明らかにしていくことができると考えられる。これらのアプローチにより、心臓線維化、心不全に対する新たな治療的の同定および診断マーカーの確立へと展開できると期待される。

研究成果の概要(英文)：Excessive fibrosis develops in pressure-overloaded heart, leading to the occurrence of heart failure. During fibrogenesis, macrophages or other inflammatory cells are recruited to the heart. However, the roles of these inflammatory cells in cardiac fibrosis are not fully elucidated. In this study, we studied the molecular processes of cardiac remodeling by focusing on the roles of cardiac macrophages.

We analyzed the expression of inflammatory cytokines, and identified several cytokines were highly expressed in cardiac macrophages. We next tested the roles of these cytokines and identified the cytokines those suppressed fibroblast activation in vitro. These cytokines may have a potential to suppress cardiac fibrosis in vivo. Elucidation the link between cardiac macrophages and fibroblast will give us further insights in the molecular processes of cardiac remodeling.

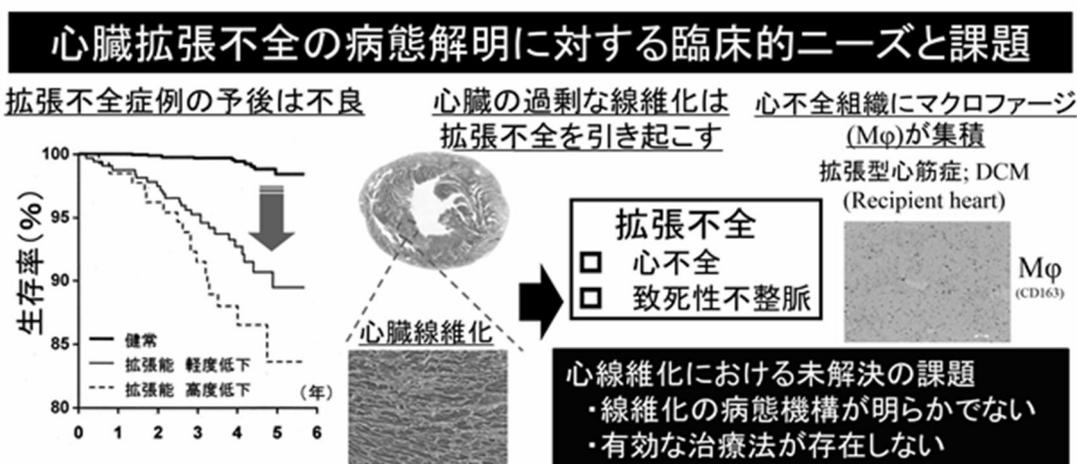
研究分野：循環器病学

キーワード：心臓病 線維化 マクロファージ

1. 研究開始当初の背景

心臓は収縮と拡張を繰り返すことでポンプとして全身に血液を駆出する役割を果たしている。心臓の収縮、拡張いずれの機能が低下しても、致死的病態である心不全（収縮不全、拡張不全）が引き起こされる。経カテーテル治療や薬物治療の進歩により、収縮不全に対する治療は近年大きく進歩している。その一方、拡張不全に対して有効な治療法は極めて乏しく、その病態解明と治療法開発が臨床的にも強く求められている。心臓病の組織では心臓の形態学的変化（リモデリング）が生じており、それらが病態にも深く関わっている事が知られている。その中でも心臓線維化は心臓拡張不全を引き起こす原因の一つと考えられている。心筋組織の過剰な線維化はまた、致死的不整脈の誘因でもあることから、心臓線維化を治療することの重要性が強く指摘されている。しかしながら心筋組織がなぜ過剰に線維化するのか、それらをどのように診断・治療すべきなのかはこれまで明らかになっていない。

心臓リモデリングの組織には、マクロファージをはじめとする炎症細胞が集積する。我々はいくつかの心筋組織の低酸素領域にマクロファージが集積すること、その分子機構として転写因子 Hypoxia inducible factor-1a (HIF-1a)が重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。更に心臓マクロファージに着目することで、サイトカインの一つであるオンコスタチンMが心筋組織の過剰な線維化を抑制し、心保護的役割を果たしている事を明らかにしてきた。



2. 研究の目的

本研究では、心臓に集積するマクロファージに着目し、心臓線維化の病態解明およびその診断マーカーを確立することを目指す。これまでの研究で心臓マクロファージが産生するサイトカインであるオンコスタチンMが心臓線維芽細胞の活性化を抑制することを見出している。本研究では心臓線維化病態モデル作成後に、経時的に血清をサンプリングし、オンコスタチンM濃度を測定することで、その診断マーカーとしての有用性を個体レベルで検証する（計画I）。

次に、心臓マクロファージが発現するサイトカインに注目する。これらサイトカインが線維芽細胞活性化に及ぼす影響を検証することで、心臓線維化に対する新たな治療標的を同定することを目指す（計画II）。

3. 研究の方法

本研究では左心室において心肥大、心線維化、心不全を誘導するモデルとして、マウス横行大動脈縮窄術を作成し、下記解析を行った。

計画I；心臓線維化の病態マーカーとして、血清オンコスタチンM測定の有用性を病態モデルを用いて検証する。

マウスに横行大動脈縮窄術を施行し、心肥大、心線維化モデルを作成する。施術3日、7日、14日および28日後にそれぞれ血清を採取し、酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)を用いてオンコスタチンM濃度の定量評価を行う。

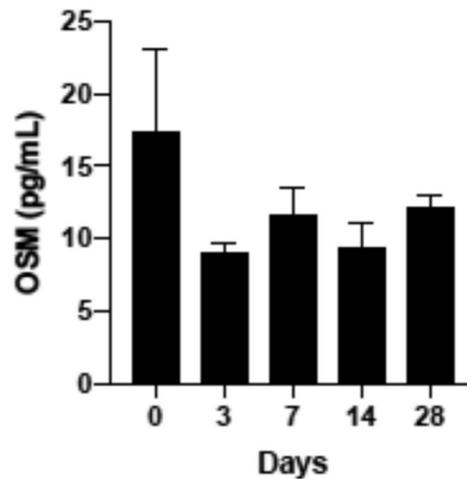
計画II；心臓マクロファージが発現するサイトカインに着目し、心臓線維芽細胞活性化の分子機構を明らかにする。

心臓に集積するマクロファージが分泌するサイトカインを探索・同定する。次に我々がこれまで樹立してきた心臓細胞由来の培養細胞株を用いて、上記サイトカインが線維芽細胞における TGFb シグナルに果たす役割につき細胞レベルで検証する。線維芽細胞活性に影響を与えるサイトカイン候補については、その中和抗体を投与することで、心臓線維化における役割を個体レベルで検証する。

#### 4. 研究成果

##### 計画 I ; 心臓線維化の診断マーカーとしての血中オンコスタチン M 測定の有用性

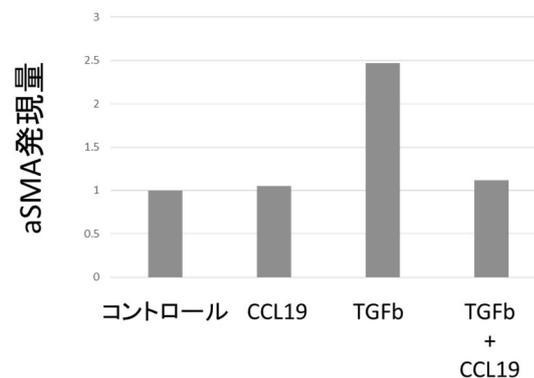
マウス横行大動脈縮窄術を作成後、血清オンコスタチン濃度を経時的に測定した (右図)。術前のマウス血清中オンコスタチン濃度は 17 pg/ml 程度であった。横行大動脈縮窄術を作成した後、血清中オンコスタチン M 濃度は 9~12 pg/ml 前後で推移した。



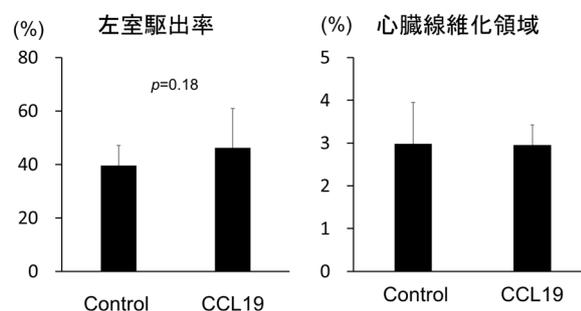
今回の解析結果から、横行大動脈縮窄術後の心筋組織にはオンコスタチン M を発現するマクロファージが集積する一方、血清オンコスタチン M 濃度は上昇せず、むしろ低下することが判った。今後、加齢、高脂肪食負荷など様々な心臓病病態モデルを用いて血清オンコスタチン M 濃度を測定することで、心臓病の病勢マーカーとしての有用性を検証する必要があると考えられた。

##### 計画 II ; 心臓マクロファージ由来の線維化制御因子

心臓マクロファージが発現するサイトカインを解析する中で、ケモカインの一つである C-C Motif Chemokine Ligand 19 (CCL19) の発現が低酸素環境で誘導することを見出した。そこで心臓線維芽細胞株における役割を解析すべく、線維芽細胞における活性化マーカーである aSMA 発現を測定した。右図の如く、TGFb により線維芽細胞株における aSMA 発現は上昇したが、それらは CCL19 投与により抑制される傾向が確認された。



次に CCL19 の役割を個体レベルで検証すべく、マウス横行大動脈縮窄術作成後に抗 CCL19 中和抗体を投与し、2 週間後に左室収縮能および病理組織学的解析を行った。その結果、CCL19 抗体投与後の左室駆出率および左室における線維化領域は対照群と比較して有意な変化を認めなかった (右図)。心臓病の病態における CCL19 の役割については、引き続き異なる時間経過および病態モデルを用いて検証する必要があると考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 Sato Tatsuyuki, Takeda Norihiko	4. 巻 81
2. 論文標題 The roles of HIF-1 signaling in cardiovascular diseases	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 202 ~ 208
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jjcc.2022.09.002	査読の有無 無
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0件

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

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