

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17086

研究課題名（和文）心筋梗塞後左室リモデリングにおける修復性単球による心臓組織修復機序の解明

研究課題名（英文）The role of reparative monocytes in tissue repair during left ventricular remodeling after myocardial infarction

研究代表者

香月 俊輔 (Katsuki, Shunsuke)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：60641016

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：急性心筋梗塞後の心不全患者の増加は未解決の医学的課題である。我々はLy-6Cワクチンを用いた炎症性単球の除去により、左室リモデリングにおける修復性単球の心臓組織修復機序解明を計画した。Red-greenマウスの心筋梗塞後、3日目にRFP陽性のCCR2陽性単球が、7日目にGFP陽性のCX3CR1陽性単球が虚血心筋に集積することを確認した。炎症性単球の除去のため血中にLy-6C抗体を誘導するLy-6Cワクチンを開発し、Ly-6C抗体の産生を確認した。Ly-6Cワクチンの投与により末梢血Ly-6C単球の減少傾向が示された。本研究を基盤として、修復性単球の梗塞後心筋への集積機構を解明する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心筋梗塞後の急性炎症に反応して修復性単球による炎症の収束と心臓組織修復（心筋細胞の脱落にともなう線維化）が進行するが、その過程の詳細は明らかではない。不十分な心臓組織修復は、心破裂や左室リモデリングによる心不全を誘導し、生命予後及び生活の質を著しく損なう。現状はアンギオテンシン系阻害薬や遮断薬などの対症的治療しかなく、心臓組織修復の新規治療法の開発にはその分子細胞機序の解明が急務である。これまで有効な薬剤や低侵襲医療のなかった領域に対する革新的治療戦略の創出へとつながれば、科学研究上のインパクトや社会への貢献度は極めて高い。

研究成果の概要（英文）：The increasing incidence of heart failure in patients following acute myocardial infarction remains an unresolved medical challenge. We aimed to elucidate the mechanisms of cardiac tissue repair by reparative monocytes in left ventricular remodeling through the depletion of inflammatory monocytes using Ly-6C vaccination. Following myocardial infarction in Red-green mice, we confirmed the accumulation of RFP-positive CCR2-positive monocytes on day 3 and GFP-positive CX3CR1-positive monocytes on day 7 in the ischemic myocardium. To deplete inflammatory monocytes, we developed a Ly-6C vaccination to induce Ly-6C antibody production in the blood, which resulted in a decrease in Ly-6C monocytes in peripheral blood upon vaccination. Building upon this research, we will elucidate the mechanisms underlying the accumulation of reparative monocytes in the post-infarction myocardium in the future.

研究分野：血管生物学

キーワード：心筋梗塞 心筋組織修復 炎症 単球 ワクチン

1. 研究開始当初の背景

未曾有の超高齢化社会を迎えた我が国では、動脈硬化性疾患(心筋梗塞、脳卒中、末梢動脈疾患など)が増加し、中でも急性心筋梗塞症は最も重篤な病態である。現在標準治療としてPCIによる早期再灌流療法が施行されているが、冠血流再開は同時に虚血再灌流傷害を惹起し、梗塞領域縮小効果を制限する。さらに梗塞後の左室リモデリングによる左室機能障害から、心不全を発症し、死因の大半を占めている。

近年、申請者は心血管病における炎症の鍵となる単球/マクロファージに多様な形質が存在することを報告した(Katsuki, Front Cardiovasc Med 2017)。中でも「CCR2 を高発現する炎症性単球(Ly-6C^{high}CCR2 陽性単球)」は虚血再灌流傷害早期の炎症過程に、「CX3CR1 を高発現する修復性単球(Ly-6C^{low}CX3CR1 単球)」は梗塞後の心臓組織修復の過程において重要な役割を果たすことが想定されている。申請者らは虚血再灌流後心筋において発症早期の炎症性単球による急性炎症が心筋虚血再灌流傷害の治療標的であることを明らかにした(Nakano, Katsuki, Sci Rep 2016)。一方、心筋梗塞後の急性炎症に反応して修復性単球による炎症の収束と心臓組織修復(心筋細胞の脱落とともに線維化)が進行するが、その過程の詳細は明らかではない。不十分な心臓組織修復は、心破裂や左室リモデリングによる心不全を誘導し、生命予後及び生活の質を著しく損なう。現状はアンギオテンシン系阻害薬や 遮断薬などの対症的治療しかなく、心臓組織修復の新規治療法の開発にはその分子細胞機序の解明が急務である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、『心臓組織修復の新規治療法開発の基盤研究として、左室リモデリングにおける修復性単球の心臓組織修復機序を解明する』ことである。

心筋傷害後の傷害心筋では常在性単球が失われ、末梢血由来の炎症性単球に置換されることから(Lavine, PNAS 2014)、修復性単球の動員は心臓組織修復の新規治療戦略となりうる。本研究では左室リモデリングにおける修復性単球の心臓組織修復機序の解明のため以下の2点を検討した。

- 1) Red-green マウスの梗塞後心筋における炎症性単球、修復性単球の存在部位の検証
- 2) 梗塞後心筋への修復性単球の集積における炎症性単球による急性炎症の関与の検証

3. 研究の方法

1) Red-green マウスの梗塞後心筋における炎症性単球、修復性単球の存在部位の検証
九州大学神経内科の山崎亮准教授は、CX3CR1GFP/GFP マウス(Jung, Mol Cell Biol 2000)および CCR2RFP/RFP マウス(Saederup, PLoS ONE 2010)を交配し、CX3CR1+/GFPCCR2+/RFP ダブルノックインマウス(Red-green マウス)を独自に作製した。本マウスの末梢血では、RFP で炎症性単球(CCR2 陽性単球)が、GFP で抗炎症/修復性単球(CX3CR1 陽性単球)がそれぞれ標識されており、両単球の存在部位を病理組織で同定することが可能となる。左前下行枝を結紮したマウス心筋梗塞モデルをRed-green マウスを用いて作製し、梗塞後心筋を蛍光顕微鏡下で解析し、CCR2 陽性単球、CX3CR1 陽性単球の分布を検証した。

- 2) 梗塞後心筋への修復性単球の集積における炎症性単球による急性炎症の関与の検証

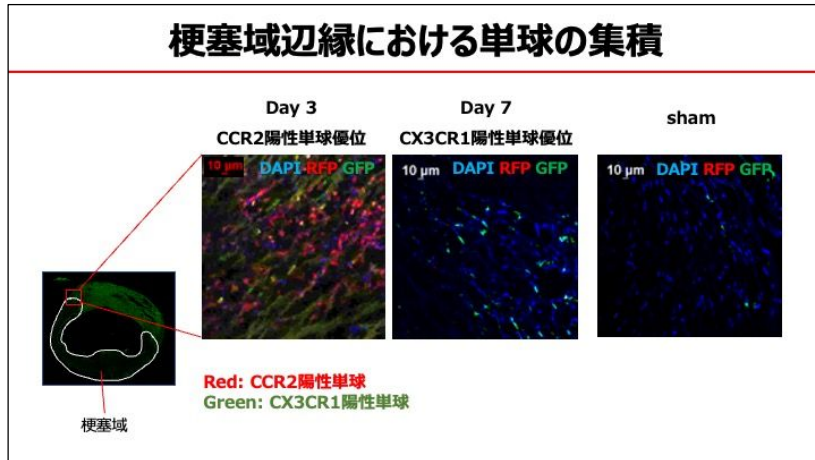
修復性単球の梗塞心筋への集積において、先行する炎症性単球による急性炎症の関与を明らかにするためには、炎症性単球を、特異的かつ持続的に除去する必要がある。今回我々は抗体医薬に着目し、近年ワクチン治療の研究開発に尽力されている大阪大学健康発達医学中神啓徳教授に炎症性単球を標的としたLy-6Cワクチンの作製を依頼した。本ワクチン接種により誘導される血中Ly-6C抗体により、効率的かつ持続的に修復性単球の病変部への集積に先行する炎症性単球を除去する。

4. 研究成果

- 1) Red-green マウスの梗塞後心筋における炎症性単球、修復性単球の存在部位の検証

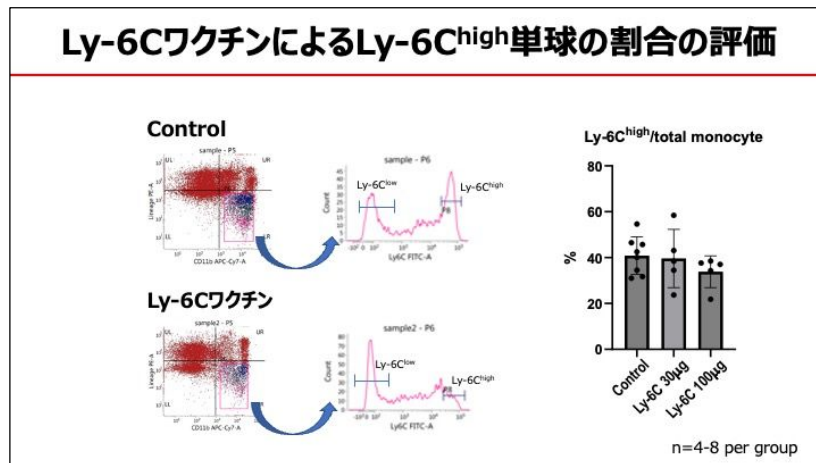
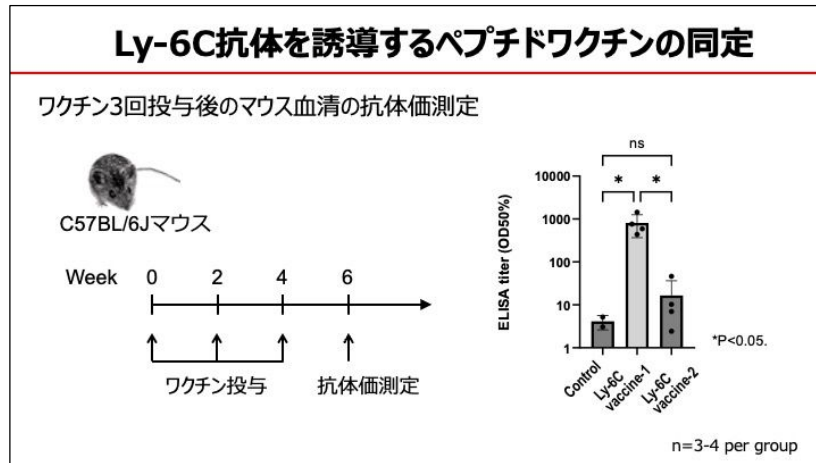
以前の報告では梗塞後3日目で炎症性単球マクロファージの、7日目で修復性単球マクロファ

ーの心筋への集積がピークとなる(Nahrendorf, Swirski, JEM 2007)。この実験結果をもとに心筋梗塞後3日、7日目に心筋を採取した。CCR2陽性単球、CX3CR1陽性単球の分布を蛍光顕微鏡にて病理学的に解析したところ、梗塞域縁において梗塞3日目にはCCR2陽性単球が、梗塞7日目にはCX3CR1陽性単球の集積を認めた(下図)。



2) 梗塞後心筋への修復性単球の集積における炎症性単球による急性炎症の関与の検証

本研究で使用したワクチンはB細胞エピートプを含むペプチドワクチンであり、ペプチドとキャリア蛋白であるKLHのconjugateを、免疫応答強度を高めるアジュバントとともに、2週ごとに計3回の皮下注射することにより、十分な抗体価が得られることが報告されている(Nakagami, Hypertension 2018)。同様のプロトコルによりLy-6C抗体をC57BL/6Jマウスに誘導した。複数のワクチンでLy-6C抗体を誘導するペプチドワクチンが同定され(下図上段)、抗体価の高いLy-6CワクチンではLy-6C陽性単球の減少傾向が認められた(下図下段)。



【今後の展開】

最終的な目標である、梗塞後心筋への修復性単球の集積における炎症性単球による急性炎症

の関与については検証できていないが、炎症性単球を除去可能な Ly-6C ワクチンを開発し、一定の研究成果が得られたと考える。本研究を基盤として、修復性単球の梗塞後心筋への集積機構を解明する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------