

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08073

研究課題名（和文）心臓マクロファージ機能の変調がもたらす恒常性破綻と心不全発症機構の解明

研究課題名（英文）Role of cardiac macrophages in regulating the homeostasis and cardiac function

研究代表者

工藤 藤美 (Kudo, Fujimi)

千葉大学・大学院医学研究院・特任助教

研究者番号：30726419

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）：心臓マクロファージは心臓間質に存在する免疫細胞の大部分を占めており、様々な機能を持つ。しかし、どのように多様な役割を果たすのか、その機構はよく分かっていない。本研究では、高齢マウスにおける心臓マクロファージサブセットに着目し、加齢により特徴的に増加するマクロファージサブセットを同定した。加齢に伴うマクロファージサブセットの変容が細胞間相互ネットワークの制御を介して心臓恒常性破綻に関わることを示唆する結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全は予後不良の疾患で、その患者数は超高齢社会を背景に増加の一途を辿っている。このことから新たなメカニズムに基づく心不全の新規治療法開発は喫緊の課題である。本研究は、マクロファージサブセットを介した恒常性維持機構や心不全、リモデリングにおける機能を明らかにすることで、新規マクロファージサブセットを標的とした新たな心不全の予防・治療法の基盤確立に繋がると考える。

研究成果の概要（英文）：The prevalence of heart failure is increasing in the aging society. We previously demonstrated that cardiac macrophages play key roles in the maintenance of homeostasis and stress response in the heart. However, the mechanisms by which cardiac macrophages give rise to diverse functions are not well understood. Cardiac macrophages are crucial for cardiac homeostasis. Therefore, we hypothesized that age-associated changes in cardiac macrophages might impair cardiac homeostasis in the elderly. Our single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) data demonstrated that cardiac macrophages consisted of multiple subsets. We found that the several tissue-resident macrophage subsets that appear to contribute to homeostasis were replaced with aged mice-specific subsets. Our data suggest that the changes in macrophage subpopulations contribute to the age-associated cardiac dysfunction.

研究分野：循環器内科学、免疫学

キーワード：マクロファージ 心不全 老化 リモデリング

1. 研究開始当初の背景

心不全は予後不良の疾患で、全国の心不全罹患者数は約 120 万人と推計される。その患者数は超高齢社会を背景に増加の一途を辿っており、医療費や医療体制への負荷が増大している。また、従来の治療薬が効果を示さない収縮の維持された心不全 (Heart Failure with preserved Ejection Fraction, HFpEF) の増加もあり、全く新しいメカニズムに基づいた心不全予防戦略や治療法の開発が喫緊の課題である。しかし、現状では心臓マクロファージを標的とする心不全治療法は存在しない。

申請者のグループはこれまでに、心臓間質に存在する非心筋細胞が、心臓のストレス応答やリモデリングに重要であることを明らかにしてきた。特にマクロファージが多様な機能を持つことを報告してきた。例えば圧負荷に応じて心臓組織マクロファージは Amphiregulin を分泌して心保護作用を示す (Nat Med 2017)。また、刺激伝導系や心筋代謝の維持にも必須であることを見いだした (Nat Commun 2021)。このような機能多様性は、心臓の場所やストレスの有無に応じて多様な応答をするサブセットがもたらすと考え (図 1)、心臓のシングルセル (単一細胞) RNA-seq 解析を行った。その結果、従来 Ly6C^{lo} 心臓組織マクロファージとして同定していた細胞はさらに複数のサブセットに分けられた。高齢マウス心臓のシングルセル解析では、老化マウス特異的なマクロファージが検出された。トランスクリプトーム解析より若齢マウス心臓で見られる組織常在マクロファージとは異なる転写因子や表面抗原を発現していることから、加齢による心不全病態の増悪等への寄与が示唆された。そこで本研究はマクロファージサブセットを標的に新たな心不全予防法や治療法開発の基盤を確立することを目指す。

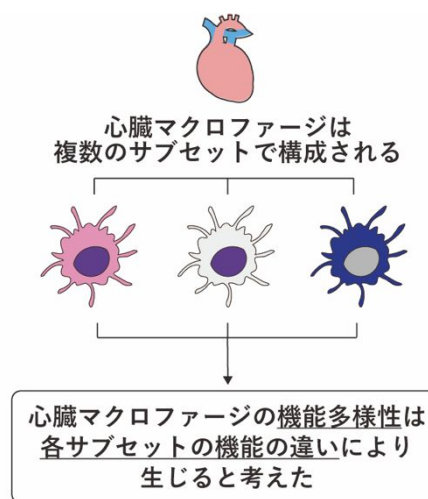


図 1 多様な機能を持つ心臓マクロファージ

2. 研究の目的

本研究は高齢マウス的心臓で増加するマクロファージサブセットによる恒常性維持機構や心不全、リモデリングにおける機能を明らかにし、新規マクロファージサブセットを標的とした新たな心不全の予防・治療法の基盤確立を目的とする。高齢マウスにおける心臓マクロファージが心負荷で誘導される炎症細胞の集積を含む病態形成、組織リモデリングに寄与するという仮説を立て検証を行うとともに、その機能を明らかにする。マクロファージサブセットの活性化機序を明らかにすることで、心不全への予防・治療に応用し得る分子基盤を明らかにする。老化マウスや圧負荷モデルにおけるシングルセル RNA-seq 解析を行い、マクロファージならびに免疫細胞の動態を解析するとともに各サブセットの機能を検討する。

3. 研究の方法

本研究は高齢マウスにおける心臓マクロファージサブセットの心臓リモデリング、心不全、老化における機能を明らかにし、マクロファージサブセットを標的とした新たな治療法の基盤の開発を行う。老化、圧負荷におけるマクロファージサブセットの動態を解析し、各マクロファージの生理的・病的機能を明らかにする。心負荷後のマクロファージサブセットの活性化機序を解析し、心機能に及ぼす影響を解明する。

これまでの結果より、心臓マクロファージは複数のサブセットに分けられることから、加齢によって心臓マクロファージサブセットの構成がどのように変化しているかを確かめるため、若齢および高齢マウス心臓のシングルセルトランスクリプトーム解析を行うことで加齢による心臓恒常性維持における影響を検討する。さらに、シングルセル解析により加齢で変容のあったマクロファージサブセットにおける、トランスクリプトームの変化を解析し、心臓の免疫細胞間ネットワークの制御に関わる細胞間相互作用を検討する。圧負荷モデルとして横行大動脈結紮 (Transverse aortic constriction, TAC) を行い、細胞間相互作用による心臓恒常性維持および病的機能への影響を調べる。

4. 研究成果

これまでの研究より、Ly6C^{lo} 心臓組織マクロファージには複数のサブセットが存在することがわかってきた。我々は心臓マクロファージの各サブセットが異なる機能を持ち、ストレス負荷により心臓マクロファージのサブセットの構成が変化することで心不全が誘導されると考えた。

加齢による心臓マクロファージサブセットの変容を明らかにするため、若齢および高齢マウス心臓のシングルセルトランスクリプトーム解析を行い、8種類に分けられたマクロファージサブセットが若齢と加齢でそれぞれ異なる比率で存在していることがわかった(図2)。また、高齢マウスにおいて特徴的に見られるマクロファージサブセットは CCR2 の発現が高く、そのサブセットの割合は、若齢マウスに比べて4倍ほど増加していた(図3)。CCR2^{high} マクロファージは、骨髄単球由来と考えられる。各マクロファージサブセットは固有の機能を持つ可能性が高いことから、老化によりサブセット構成が変わることが加齢による心不全病態の増悪等に関与すると考えた。

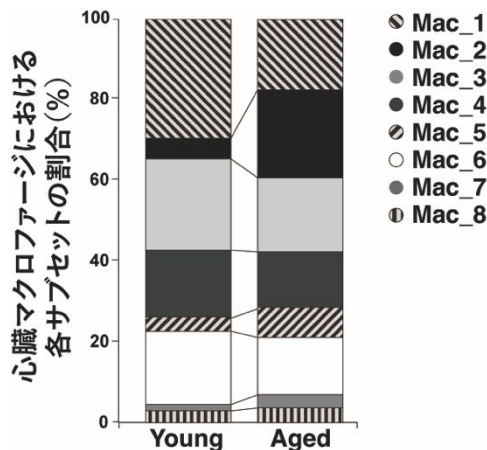


図2 加齢により心臓マクロファージの各サブセットの割合が変化していた。サブセットの構成変化に伴うマクロファージの機能変容が考えられる。

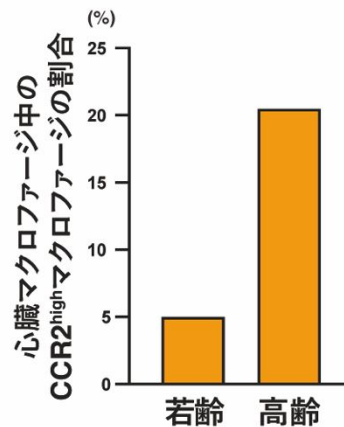
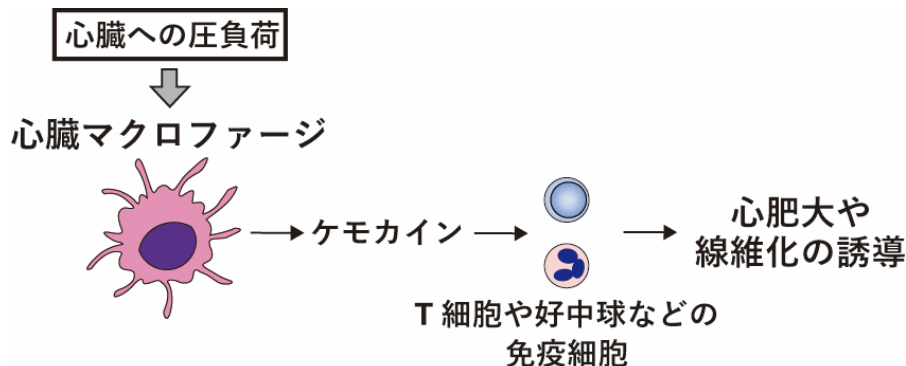


図3 高齢マウスの心臓では骨髄単球由来の CCR2^{high} マクロファージサブセットの割合が増加していた。

さらに、マクロファージのサブセット間で、細胞間コミュニケーションに関わる分子の発現レベルが異なっていることが明らかとなった。このことから、加齢によりこれらの分子による免疫細胞集積の制御に変化が生じている可能性が考えられた。我々は特にケモカインによる心臓恒常性維持機構に着目した。ケモカイン受容体の阻害剤を投与した野生型マウスに TAC を行ったところ、左室駆出率 (EF) が低下していたことから、ケモカイン受容体を介して心臓保護的な作用が誘導されることが明らかとなった。また、マクロファージサブセット由来のケモカインによる心臓恒常性維持機構および病態制御機構については不明な点が多く存在することから、心臓マクロファージと免疫細胞や線維芽細胞との共培養による、細胞間相互作用を制御するメディエーターの同定を進めている。

TAC モデルにおける心臓マクロファージのシングルセルトランスクリプトーム解析からも、マクロファージサブセットの構成と遺伝子発現に変動が見られ、心臓リモデリング制御に関わるサブセットを同定した。

以上の結果より、マクロファージサブセットと免疫細胞との細胞間相互ネットワークを介した心臓恒常性維持や、心不全、リモデリング制御への関連が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Fujimi Kudo, Hyeree Kim, Ichiro Manabe
2. 発表標題 Aging induces alterations in expression pattern of chemokines and chemokine receptors in cardiac tissue macrophage
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Fujimi Kudo, Hyeree Kim, Ichiro Manabe
2. 発表標題 Aging is associated with decreased chemokine expression in cardiac tissue macrophage
3. 学会等名 第6回日本循環器学会 基礎研究フォーラム (BCVR)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Fujimi Kudo, Hyeree Kim, Ichiro Manabe
2. 発表標題 Role of Cardiac Macrophage-derived Chemokines in Triggering Age-associated Cardiac Remodeling
3. 学会等名 第87回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Fujimi Kudo, Hyeree Kim, Katsuhito Fujiu, Ichiro Manabe
2. 発表標題 Age-Related Alteration of Chemokine Expression in Cardiac Tissue Macrophages
3. 学会等名 第86回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Fujimi Kudo, Hyeree Kim, Ichiro Manabe
2. 発表標題 Age-related alteration of cardiac macrophage subsets and function
3. 学会等名 第97回日本薬理学会年会（公募シンポジウム）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Fujimi Kudo, Hyeree Kim, Ichiro Manabe
2. 発表標題 Age-related alteration in chemokine expression patterns in cardiac macrophages
3. 学会等名 第7回日本循環器学会 基礎研究フォーラム（BCVR）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Fujimi Kudo, Hyeree Kim, Ichiro Manabe
2. 発表標題 Regulation of Cardiac Remodeling by Cardiac Macrophage Subsets
3. 学会等名 第88回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Fujimi Kudo, Hyeree Kim, Ichiro Manabe
2. 発表標題 Age-related Alteration in Chemokine and Chemokine Receptor Expression patterns in Cardiac Macrophages
3. 学会等名 JSICR/MMCB 2023 合同シンポジウム
4. 発表年 2023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
--	---------------------------	-----------------------	----

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