

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16490

研究課題名(和文)免疫制御メカニズムに着目した大動脈弁石灰化発症・進行抑制薬の開発

研究課題名(英文) Development of drugs focused on immune regulatory mechanisms that inhibit the onset and progression of aortic valve calcification

研究代表者

立石 渉 (Tatsuishi, Wataru)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50722378

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：AS切除検体におけるグラム陰性菌の指標となるlipopolysaccharide (LPS)の存在とPD-L1発現、CD8陽性Tリンパ球、CD163陽性マクロファージ、FOXP3陽性制御性Tリンパ球(Treg)の浸潤の有無、大動脈弁石灰化との関連を調査したところ、LPS検出された症例ではPD-L1発現が有意に高く観察された。弁石灰化が強い組織ではLPSが検出されるが、石灰化が乏しい部位ではLPSとPD-L1の共存関係は観察されなかった。またLPSが検出されない弁組織では、PD-L1タンパクの発現パターンと一致してCD163陽性マクロファージとFOXP3陽性Tregが高度に浸潤していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、これまでの研究によって、大動脈弁狭窄症症例の石灰化した弁組織に、有意に免疫細胞と免疫チェックポイントタンパクが浸潤していることを明らかにした。このことから、大動脈弁の石灰化の発症・進行に免疫システムが大きく寄与している事が示唆されている。よって、さらに免疫システムとの関連を調べることにより、大動脈弁狭窄症の発症・進行を予防する治療薬ツール開発につながる重要な基礎データとなると考える。

研究成果の概要(英文)：We investigated the association between the presence of lipopolysaccharide (LPS), an indicator of Gram-negative bacteria, and PD-L1 expression, the presence of infiltration of CD8-positive T lymphocytes, CD163-positive macrophages, and FOXP3-positive regulatory T lymphocytes (Treg) in AS resection specimens and aortic valve calcification.

We observed significantly higher PD-L1 expression in LPS-detected cases. LPS was detected in tissues with strong valve calcification, but no coexistence between LPS and PD-L1 was observed in areas with poor calcification. In valve tissues where LPS was not detected, there was a high infiltration of CD163-positive macrophages and FOXP3-positive Tregs, consistent with the expression pattern of PD-L1 protein.

研究分野：Cardiovascular surgery

キーワード：大動脈弁狭窄症 PD-1/PD-L1 免疫チェックポイントタンパク LPS

1. 研究開始当初の背景

大動脈弁狭窄症 (AS) の病変である大動脈弁石灰化の発症や進行を制御する治療方法は、これまで開発に至っていない。AS が発症・進行する因子として、これまでに血流ストレスや LDL による影響や、マクロファージや T 細胞による組織障害、炎症などの影響が示唆されているが、それらを制御するシステムの解明は未だなされていない。我々はヒト大動脈弁組織において、石灰化の程度と細胞傷害性 T 細胞・単球/マクロファージ・制御性 T 細胞・PD-1/PD-L1 タンパクの発現の程度が関連していることを明らかにした。この結果から、免疫システムが AS の発症・増悪のみでなく制御にも関与していることが推測された。

2. 研究の目的

石灰化した大動脈弁において免疫チェックポイント蛋白 PD-1/PD-L1 や細胞傷害性 T 細胞、制御性 T 細胞 (Treg)、単球/マクロファージの発現を免疫染色にて確認したところ、石灰化が強い AS 切除検体において、PD-1/PD-L1 タンパクと細胞傷害性 T 細胞、制御性 T 細胞が有意に発現していることを確認したことから、免疫システムが石灰化に影響している可能性が考えられた。

そこで炎症を起こす病態として最も一般的である感染が弁の石灰化に影響を及ぼすか同定

することを、目的とした。

3 . 研究の方法

大動脈弁狭窄症症例で、病理標本が使用可能であった 50 例を対象とした。ヒト大動脈弁組織に対して免疫組織化学的分析を行い、グラム陰性菌の指標となる lipopolysaccharide (LPS) とグラム陽性菌の指標となる lipoteichoic acid (LTA) の発現を見た。さらに細菌感染と免疫チェックポイントタンパク PD-L1 発現、免疫細胞浸潤の指標として、CD8 陽性 T リンパ球、CD163 陽性マクロファージ、FOXP3 陽性制御性 T リンパ球 (Treg) などの免疫細胞の浸潤、大動脈弁石灰化との関係を精査した。

4 . 研究成果

免疫染色の結果、LPS が高度に発現していた症例では有意に PD-L1 タンパク発現と相関がみられた。また、大動脈弁石灰化が強い組織において LPS の発現が高く、石灰化が乏しい部位では PD-L1 との関連はなかった。また LPS 発現が少ない部位において、PD-L1 タンパクの発現が多い部位には CD163 陽性マクロファージと FOXP3 陽性 Treg の浸潤度が高かった。結果として、大動脈弁狭窄症において、グラム陰性菌の感染と石灰化の関連が示唆された。

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 0件）

1. 著者名 Erkhem-Ochir Bilguun, Tatsuishi Wataru, Yokobori Takehiko, Gombodorj Navchaa, Saeki Hiroshi, Shirabe Ken, Abe Tomonobu	4. 巻 21
2. 論文標題 Immunohistochemical Detection of Bacteria in the Resected Valves was Associated with Stromal Immune Checkpoint Protein Expression that may Contribute to Calcific Aortic Stenosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1053/j.semtcvs.2021.10.007	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Wataru Tatsuishi, Bilguun Erkhem-Ochir, Takehiko Yokobori, Naoki Konno, Yasunobu Konishi, Tomonobu Abe
2. 発表標題 大動脈弁石灰化に対する炎症と免疫チェックポイントタンパク
3. 学会等名 第74回日本胸部外科学会学術集会
4. 発表年 2021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
---------	---------