

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 17 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790739

研究課題名（和文） 心不全の病態における樹状細胞の機能解析と、樹状細胞を標的とした心不全治療の研究

研究課題名（英文） Functional Analysis of Dendritic Cells in the Pathophysiology of Heart Failure and a Study of Heart Failure Treatment Targeting Dendritic Cells

研究代表者

杉 雄介 (SUGI YUSUKE)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：40389250

研究成果の概要（和文）：ヒト心不全症例において免疫反応の中心を担う「樹状細胞」に焦点をあてヒト心不全症例で検討を行なった。心不全の病態と樹状細胞の数、活性化マーカーは関連していた。さらに樹状細胞の動態は心機能や心筋障害の指標とも関連し、予後とも関連していた。

マウスにおいて樹状細胞に心筋特異的蛋白を認識させ投与すると、自己免疫性心不全を発症することを明らかにした。この心不全モデルマウスにシンバスタチンを前投与すると、炎症、心不全の程度の改善を認めた。マウスの樹状細胞を培養し、シンバスタチンを前投与して活性化させたところ、樹状細胞の活性化マーカー、及び炎症性サイトカインの著明な抑制を認めた。以上の結果より、心不全の病態形成に炎症を介した樹状細胞の関与が示唆され、スタチン投与により樹状細胞を抑制し、心不全治療の新たな標的となりうる事が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We focused on dendritic cells (DCs) which are the most potent antigen-presenting cells. We demonstrated that the numbers and activation markers of DCs were correlated with cardiac function, clinical parameters and prognosis in patients with decompensated heart failure. We also investigated whether DCs would be involved in the pathogenesis of heart failure using mice myocarditis model. Autoimmune myocarditis and heart failure were induced by DCs pulsed with cardiac antigen peptide. These autoimmune myocarditis and heart failure were attenuated by simvastatin. We also examined the effects of simvastatin on activation markers and cytokines production of DCs in vitro. Simvastatin significantly suppressed activation markers and inflammatory cytokines. These results suggest that DCs may play a role in the pathogenesis of heart failure and simvastatin may suppress dendritic cell-induced autoimmune myocarditis, possibly by inhibiting the activation and inflammatory cytokines production of DCs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：循環器、心不全、免疫学、心筋障害

1. 研究開始当初の背景

近年 RAAS 系阻害剤や、 β -blocker の導入により心不全の治療法は進歩したが、依然その予後は不良である。心不全の病因や病態については未だ不明な点が多く、根本的な治療が確立されていない事も一因である。これまでは組織学的、生理学的に心不全の病態にアプローチする事が試みられていたが、近年自己免疫を介した炎症が心不全の病態の進行や組織障害に深く関わっている事が示唆されている。

2. 研究の目的

免疫反応の中心を担う「樹状細胞」にまず focus をあて、心不全の病態に免疫学的なアプローチを行い、心不全の病態における自己免疫の関わりを明らかにし、新たな角度から新たな治療法の開発を試みる事を目的とした。

3. 研究の方法

(1) ヒト心不全症例における末梢血樹状細胞の数と活性化の評価

心不全症例の末梢血樹状細胞の数に加えて、活性化マーカー特異的抗原である CD40、リンパ節への homing marker である CCR7 を 4 カラーフローサイトメトリーにより測定し、活性化・成熟した樹状細胞の評価を行う。その上で臨床のパラメーターとの相関や予後との検討を行う。

(2) 心筋ミオシンでパルスした樹状細胞による自己免疫性心不全の誘発と解析

Balb/c マウスの骨髄細胞を GM-CSF 存在下に培養し、活性化した後に心筋ミオシンでパルスしてマウスに投与し、自己免疫性心不全の誘発を試みる。

(3) 活性化した樹状細胞を、Statin で抑制できるかを検討する

in vitro でマウス樹状細胞を培養した後 LPS で活性化する。Simvastatin を前投与した群と比較し、活性化マーカー、炎症性サイトカインが抑制できるかを検討する。

(4) Simvastatin による自己免疫性心不全の治療

樹状細胞により誘発される自己免疫性心不全モデルに Simvastatin を前投与する事で、心不全治療を試みる。

4. 研究成果

(1) ヒト心不全症例における末梢血樹状細胞の数と活性化の評価

久留米大学病院心臓・血管内科に入院となった急性心不全症例の末梢血樹状細胞 (DC) の数と、活性化マーカー (CD40, CCR7) の計測を行い対象群と比較した。

入院時、急性心不全症例では対象群と比較し著明に DC 数は減少しており、さらに活性化マーカーが上昇していた。心不全加療後、DC 数と活性化マーカーは改善していた。DC 数の変化は、心機能の指標である BNP や EF、また心筋障害の指標である Troponin T と相

関を認めた。さらに心不全治療後も DC 数の改善が乏しい群では、その後半年間で心不全の再発が有意に多かった。

(2) 心筋ミオシンでパルスした樹状細胞による自己免疫性心不全の誘発と解析

マウスの骨髄細胞を G-CSF 存在下に培養し、90%以上の純度で樹状細胞の培養が可能となった。この DC を培養した9日目に mouse myosin heavy chain α ペプチドでパルスを行ない、LPS と CD40 抗体で刺激し樹状細胞に抗原として認識させたうえでマウスに投与すると、1週間後には心筋にリンパ球を中心とした炎症細胞浸潤を認めた。さらに4週間後には心重量の増加が認められ自己免疫性心不全を発症していた。

(3) 活性化した樹状細胞を、Statin で抑制できるかを検討する

樹状細胞を、コントロール群、LPS 投与群、LPS とシンバスタチンを同時に投与した群に分けて培養し、24時間後にフローサイトにて樹状細胞の表面抗原の発現を、ELISA で上清中の炎症性サイトカインの産生を測定した。LPS 投与群は非投与群と比べ、活性化マーカーである CD80, 83, 86、また MHC 分子の発現を強く認めた。一方でスタチン投与群はスタチン非投与群と比較して、樹状細胞の LPS 刺激による CD80, 83, 86 の発現強度の低下、また MHC 分子の発現強度の低下を認めた。

さらに炎症性サイトカインについても LPS 投与群は非投与群と比べ、炎症性サイトカインの著明な上昇を認めたが、スタチン投与群はスタチン非投与群と比較して、樹状細胞の LPS 刺激による炎症性サイトカインの産生を著明に抑制した。

(4) Simvastatin による自己免疫性心不全の治療

先に確立した心筋ミオシンでパルスした樹状細胞による自己免疫性心不全モデルに、Simvastatin を前投与しておいたところ、Simvastatin 投与群は非投与群に比して心筋の炎症のスコアの改善が認められた。さ

らに Simvastatin 投与群は心/体重比も有意に改善し、心不全の改善が認められた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Sugi Y, Yasukawa H, Kai H, Fukui D, Futamata N, Mawatari K, Oba T, Nagata T, Kyougoku S, Koga M, Imaizumi T: Reduction and activation of circulating dendritic cells in patients with decompensated heart failure. Int J Cardiol 147: 258-264, 2011

[学会発表] (計 2 件)

1. Yasukawa H, Sugi Y, Ohshima H, Imaizumi T: The role of dendritic cells in the pathogenesis of heart failure. (The XX World Congress of the ISHR (International Society for Heart Research), Symposium: The Molecular mechanism of myocarditis and heart failure Kyoto, May 13-16, 2010)
2. Oba T, Yasukawa H, Sasaki K, Futamata N, Mawatari K, Nagata T, Kyogoku S, Ohshima H, Fukui D, Sugi Y, Imaizumi T: Cardiac-specific deletion of SOCS3 prevented myocardial apoptosis after acute myocardial infarction via inhibiting mitochondrial damage. 第 74 回日本循環器学会学術集会 2010 年 3 月 5-7 日、京都

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉 雄介 (SUGI YUSUKE)
久留米大学・医学部・助教
研究者番号：40389250

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし