

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16136

研究課題名（和文）クローン性造血がHFpEF病態を修飾するメカニズムの解明

研究課題名（英文）Understanding How Clonal Hematopoiesis Modifies the Pathophysiology of HFpEF

研究代表者

由良 義充（Yura, Yoshimitsu）

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：60943305

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）：心収縮機能が保たれた心不全（HFpEF）は、有効な治療薬に限られる難治性疾患である。本研究では、体細胞変異を持つ造血幹細胞が骨髄で増殖した状態「クローン性造血」が、HFpEFに与える影響を実験的に検証した。ヒトのクローン性造血を模したモデルマウスを用いた解析の結果、クローン性造血は免疫細胞の機能変化を介してHFpEF病態を悪化させる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、免疫細胞における体細胞変異を通じて心血管病の病態生理を理解するという、既存の研究とは全く異なる視点からのアプローチを進め、クローン性造血がHFpEFの病態を悪化させるという仮説を検証した。HFpEFは病態生理が十分に明らかになっておらず、有効な治療法も限定的であるため、現在の心血管病診療における最大の医療ニーズとも言われている。得られた知見に基づき、新規診断法や治療法の開発を進めることが可能であるため、本研究には大きな社会的意義があり、今後の発展が期待される。

研究成果の概要（英文）：Heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) is a refractory disease with limited effective treatments. 'Clonal hematopoiesis' refers to the state where hematopoietic stem cells with somatic mutations proliferate in the bone marrow, and it has recently been reported as an independent risk factor for arteriosclerosis and ischemic heart failure. In this study, we created a model mouse that mimics human clonal hematopoiesis and investigated the pathology of HFpEF. The results suggested that clonal hematopoiesis might exacerbate HFpEF pathology through functional changes in immune cells.

研究分野：循環器内科

キーワード：心収縮機能が保たれた心不全 クローン性造血

1. 研究開始当初の背景

我が国の平均寿命と健康寿命には、男女ともに約 10 年の差があり、主たる原因である心血管疾患の予防と治療は社会における喫緊の課題であると言える。心収縮機能が低下した心不全 (HFrEF) は、病態の理解が進み、新しい治療薬の登場により予後は徐々に改善している。一方、高齢者心不全の約半分を占める心収縮機能が保たれた心不全 (HFpEF) は、病態生理が十分に解明されておらず、依然として有効な治療薬がない難治性疾患である (文献 1)。HFrEF に対する治療薬が HFpEF に対してはほぼ効果がないため、HFpEF には HFrEF とは異なる未知の病態が関与していると考えられる。近年、糖尿病や高血圧などの生活習慣病を背景とした慢性炎症が心臓の線維化を促進し、拡張不全を引き起こすという概念に注目が集まっているが、その詳細についてはまだ十分な研究が行われていない。

また、造血幹細胞において加齢と共に体細胞変異が生じ適応性の高いクローンが増幅する現象「クローン性造血 (CH: Clonal Hematopoiesis)」は、血液がんの原因となることは知られていたが、その他の病的な意義は不明であった。しかし最近の疫学的な検討から、心血管疾患の独立した危険因子であると報告され (文献 2)、心不全の病因解明において重要な概念として循環器領域で大きな注目を集めている。しかし、クローン性造血と HFpEF の関連性を検証した報告はない。

2. 研究の目的

クローン性造血が HFpEF 病態に与える影響を動物実験、細胞実験から明らかにし、HFpEF の病態生理の解明、将来の治療薬開発につなげることを目指す。

3. 研究の方法

マウスに高脂肪食 (HFD) と NO 合成酵素阻害剤 (L-NAME) を投与し、マウスに糖尿病と高血圧をとともに発症させることで、心収縮力には影響を与えず、拡張障害を引き起こす HFpEF モデルマウスを作成する (文献 3)。骨髄移植法によりクローン性造血モデルマウスを作成し、HFD+L-NAME 刺激を加えることで、クローン性造血が HFpEF 病態に与える影響を明らかにする。生理学的な解析として心臓エコー検査、カテーテル検査、病理学的検討として、繊維化、心筋細胞面積の測定、加えて免疫細胞の解析として心臓に浸潤するマクロファージを FACS の手法で回収し、遺伝子発現解析をする。

4. 研究成果

本研究では疫学的に最も高頻度に検出される遺伝子の一つである DNA 脱メチル化酵素 (Ten-Eleven Translocation-2 :TET2) に着目し、クローン性造血モデルマウスの作成には、野生型マウスに、Tet2 遺伝子変異を有するマウスから採取した骨髄を大量かつ複数回 (5×10^6 、3 日間) 移植する手法を用いた (文献 4)。骨髄内には造血幹細胞が生着するわずかなフリースペースが存在すると言われており、少量の生着した Tet2^{-/-} 造血幹細胞は移植先骨髄内で競合優位的に増殖し、1 ヶ月後には変異細胞を 10-20% 有する Tet2 クローン性造血モデルマウスを作成できる。Tet2 クローン性造血モデルマウスに HFD+L-NAME 処理を行い、末梢血液における変異細胞の割合と心臓機能の経時的な変化を定量した。末梢血液のフローサイトメトリー解析を行うと、変異細胞 (ドナー由来細胞) は正常細胞 (レシピエント由来細胞) と比べて経時的に著明に割合が増加し、さらに HFD+L-NAME 処理により、さらに増強が確認された (図 1)。また、心臓機能の評価すると、両群において心臓の収縮能は変化しなかったが、拡張能 (E/e') が低下し、Tet2^{-/-} 群において Tet2^{+/+} 群と比べて強い拡張能障害が惹起された (図 2)。カテーテル検査からは Tet2^{-/-} 群において左室拡張末期圧の優位な上昇が観察された。このマウスでは、心筋間質繊維化 (%Fibrosis)、心筋細胞表面積 (CSA) 拡

様式 C-19、F-19-1 (共通)

大が増強していることが確認された。変異免疫細胞が病態進行に寄与する機構を調べるために、Tet2^{+/+}、Tet2^{-/-}の両群のHFpEFの心臓からCD45⁺CD64⁺Ly6G⁻Ly6C⁻のマクロファージを単離して、RNA シークエンスによる遺伝子発現解析を行った。Tet2^{-/-}マクロファージにおいて、破骨細胞分化、IL17経路、Toll like Receptor 経路、NFκB 経路などを含む種々の炎症関連、インフラマソーム関連分子の発現が変化していることが見出された(図3)。以上より、高血圧や糖尿病などの刺激が原因で発症するHFpEFの病態において、クローン性造血が免疫・炎症反応を介して、病態発症および進行に影響を与える可能性が示された。

【今後の展望】

今回提示したように、クローン性造血がHFpEF病態を悪化させるという仮説を、基礎実験から検証している。本研究では、変異免疫細胞の機能変化に着目して研究を行なったが、実際には、変異免疫細胞が周辺の心臓構成細胞群(線維芽細胞、内皮細胞、血管平滑筋細胞)に働きかけて病態の進行に寄与していると思われる。今後はこの細胞間相互作用に注目した研究を継続する予定である。

文献

1. Borlaug BA. Evaluation and management of heart failure with preserved ejection fraction. *Nat Rev Cardiol.* 2020 Sep;17(9):559-573
2. Jaiswal S, Natarajan P, Silver AJ, Gibson CJ, Bick AG, Shvartz E, McConkey M, Gupta N, Gabriel S, Ardissino D, Baber U, Mehran R, Fuster V, Danesh J, Frossard P, Saleheen D, Melander O, Sukhova GK, Neuberg D, Libby P, Kathiresan S, Ebert BL. Clonal Hematopoiesis and Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017 Jul 13;377(2):111-121.
3. Schiattarella GG, Altamirano F, Tong D, French KM, Villalobos E, Kim SY, Luo X, Jiang N, May HI, Wang ZV, Hill TM, Mammen PPA, Huang J, Lee DI, Hahn VS, Sharma K, Kass DA, Lavandro S, Gillette TG, Hill JA. Nitrosative stress drives heart failure with preserved ejection fraction *Nature.* 2019 Apr;568(7752):351-356.
4. Wang Y, Sano S, Yura Y, Ke Z, Sano M, Oshima K, Ogawa H, Horitani K, Min KD, Miura-Yura E, Kour A, Evans MA, Zuriaga MA, Hirschi KK, Fuster JJ, Pietras EM, Walsh K. Tet2-mediated clonal hematopoiesis in nonconditioned mice accelerates age-associated cardiac dysfunction. *JCI Insight.* 2020 Mar 26;5(6):e135204.

図1. 末梢血フローサイトメトリー解析により、ドナー細胞の割合を確認。Tet2 変異細胞は競合的に優位に増殖する。HFD+L-NAME 処理によって変異細胞の増殖が亢進する。

図2. HFD+L-NAME 処理によって作成される HFpEF モデルマウスでは、Tet2 変異群で心臓の拡張機能(E/e')がより強く障害される。心筋間質の繊維化(%Fibrosis)及び心筋細胞の表面積(CSA)の拡大が増強する。

図3. HFpEF モデルマウスの心臓から単離した Tet2 変異マクロファージでは、炎症関連分子の発現に変化が見られる。

様式 C-19、F-19-1 (共通)

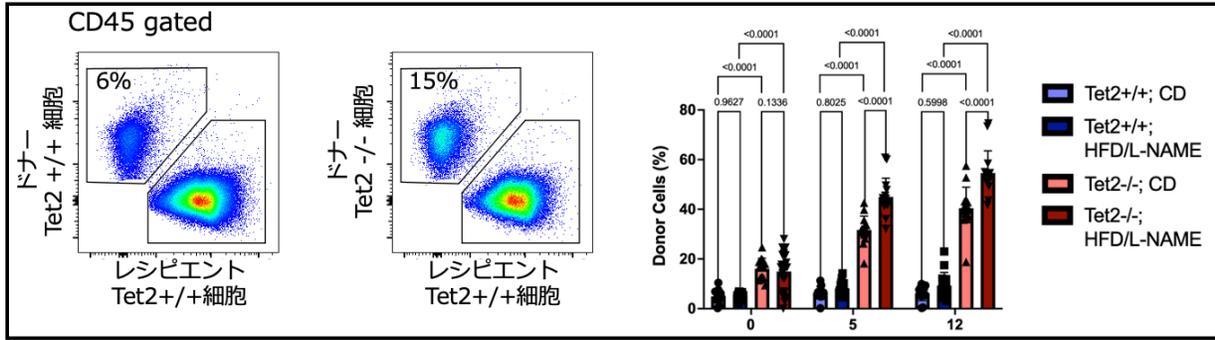


図 1.

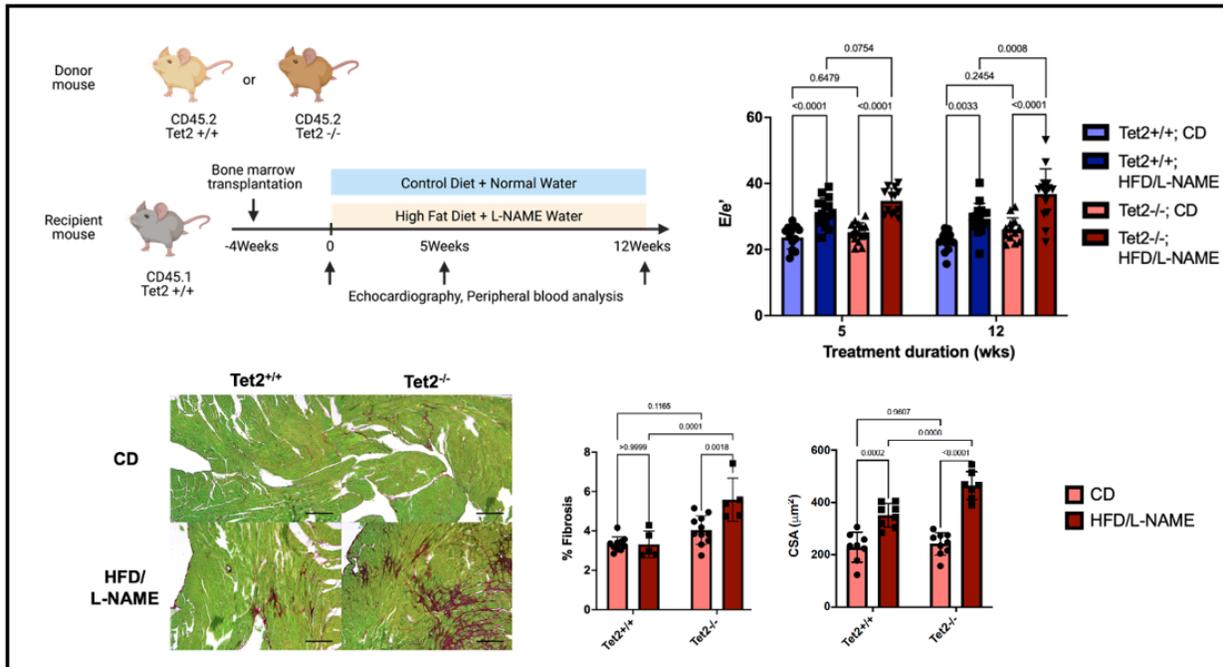


図 2.

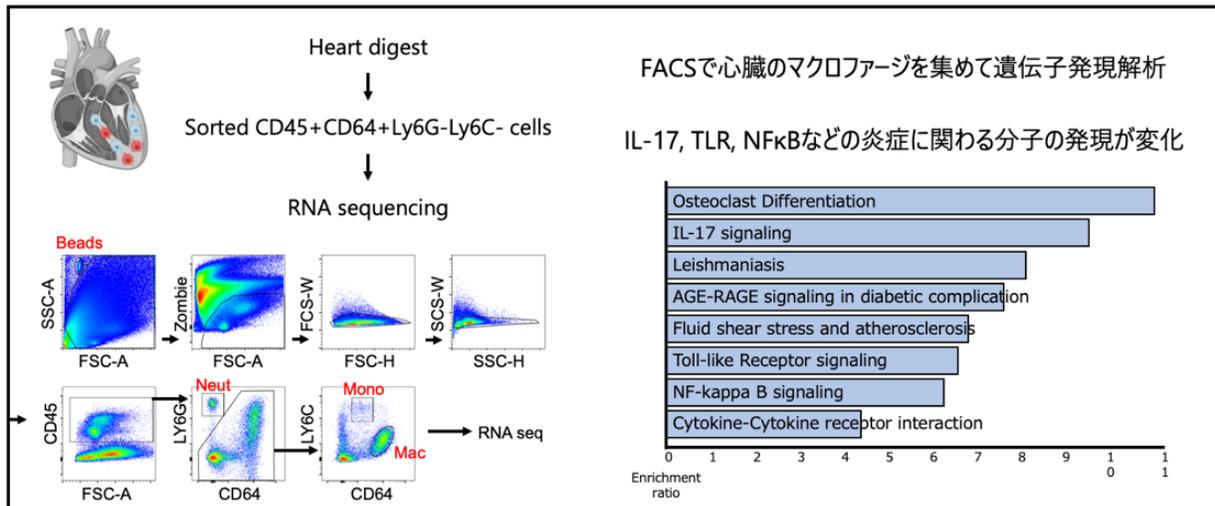


図 3.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Cochran JD, Yura Y, TheI MC, Doviak H, Polizio AH, Arai Y, Arai Y, Horitani K, Park E, Chavkin NW, Kour A, Sano S, Mahajan N, Evans M, Huba M, Naya NM, Sun H, Ban YH, Hirschi KK, Toldo S, Abbate A, Druley TE, Ruberg FL, Maurer MS, Ezekowitz JA, Dyck JRB, Walsh K.	4. 巻 148
2. 論文標題 Clonal Hematopoiesis in Clinical and Experimental Heart Failure With Preserved Ejection Fraction	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 1165 ~ 1178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCULATIONAHA.123.064170	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Yura Yoshimitsu, Cochran Jesse D., Walsh Kenneth	4. 巻 18
2. 論文標題 Therapy-Related Clonal Hematopoiesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Heart Failure Clinics	6. 最初と最後の頁 349 ~ 359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.hfc.2022.02.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 5件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yoshimitsu Yura
2. 発表標題 Clonal hematopoiesis: A new potential link between cancer and cardiovascular disease
3. 学会等名 第87回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 由良 義充
2. 発表標題 がんと心血管疾患の新しいつながり：がん治療関連クローン性造血
3. 学会等名 第6回日本腫瘍循環器学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 由良 義充
2. 発表標題 クローン性造血と心血管疾患 -新しいゲノム医療の可能性-
3. 学会等名 第64回日本脈管学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 由良 義充
2. 発表標題 クローン性造血と心血管疾患について
3. 学会等名 CVMW2023 心血管代謝週間（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshimitsu Yura
2. 発表標題 Clonal Hematopoiesis and Cardiovascular Diseases: Exploring the Potential for New Diagnostic and Therapeutic Approaches
3. 学会等名 第88回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 由良 義充	4. 発行年 2023年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 5
3. 書名 BIOclinica	

1. 著者名 由良 義充	4. 発行年 2024年
2. 出版社 日本臨床社	5. 総ページ数 6
3. 書名 日本臨床 増刊号 腫瘍循環器学	

〔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
---------	---------