

心筋梗塞後の炎症・修復を制御する新規分子機序の解明

安西 淳

慶應義塾大学医学部 循環器内科

【研究の背景】

心筋梗塞(MI)に対する再灌流療法の発達は急性期死亡率を劇的に低下させたが、左室リモデリングによる慢性心不全の有病率をむしろ増加させるというパラドックスを生んだ。MI 後組織修復には免疫応答の賦活化とそれに付随した炎症反応が不可欠であるが、これらが一度過剰になるとかえって組織障害を進展させ、心不全を増悪させてしまう。MI 後に免疫応答や炎症反応が過剰となる機序が明らかとなれば新規治療標的となり得ると考えられる。

【目 的】

本研究ではマイトジェン誘導性遺伝子 Sipal (Signal-induced proliferation-associated gene 1)を中心とした MI 後組織障害・修復機構の新たなメカニズムを明らかにし、新規治療法へと発展させることを目的とする。

【方 法】

SipalKO マウス、Sipal-flox マウス、Sipal-GFP knockin マウスなどの遺伝子改変マウスを用いて MI 後心不全における Sipal の役割を検証する。

【結 果】

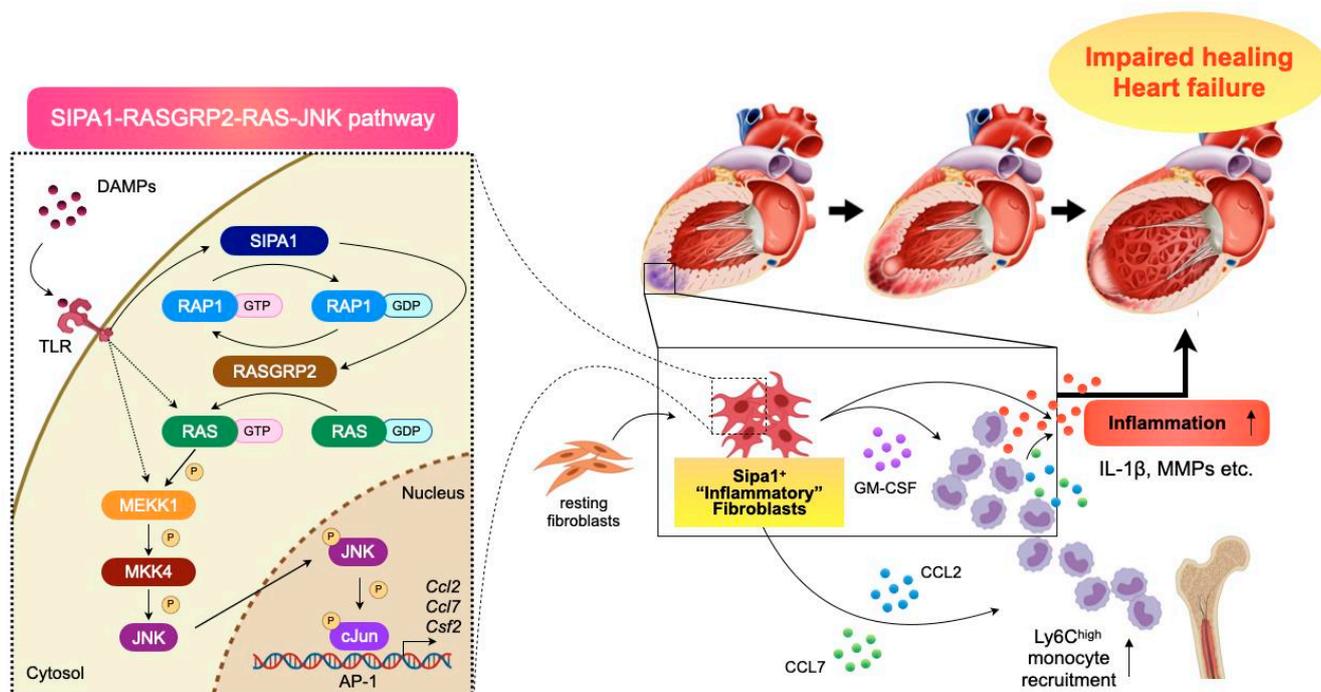
Sipal ノックアウト(SipalKO)マウスに MI を作製し、28 日間観察すると、その生存率は野生型(WT)マウスと比較して改善傾向にあり、左室駆出率や左室拡張末期径など左心機能の指標は有意差を持って良好であった。SipalKO マウスでは炎症急性期である day4 での Ly6Chigh 単球の浸潤が有意に低く、qPCR で解析した炎症性サイトカインの遺伝子発現も有意に抑制されていた。炎症性サイトカインの産生源となり過剰な炎症に寄与する Ly6Chigh 単球は、梗塞部局所で産生される炎症性ケモカイン、特に CCL2/CCL7 によって誘導され、組織障害を増悪させることが知られている。梗塞部でこれらケモカインの遺伝子発現を検討すると、SipalKO マウスで有意に減少していた。

梗塞部においてどの細胞由来の Sipal が重要かを骨髄移植(BMT)モデルで確認したところ、心臓間質細胞由来の Sipal の重要性が示唆された。Flow cytometry 法により心臓間質細胞(CD45-)を内皮細胞、線維芽細胞、それ以外の三つに分け、Sipal-GFP/+レポーターマウスを用いて Sipal の発現を検討すると、内皮細胞と線維芽細胞で Sipal の発現を認めた。一方、各細胞群を FACS でソートし、CCL2 と CCL7 の遺伝子発現を検討すると、線維芽細胞でのみ有意な発現を認めた。

心臓線維芽細胞特異的 Sipal コンディショナル KO マウスである Tcf21Cre/+ Sipal-flox/flox マウスを作成し、解析を行った。同マウスにタモキシフェン投与後に MI を作成すると、コントロールである Tcf21/+ Sipal-flox/flox マウスと比較して、生存率が有意に高く、左心機能の著明な改善を認めた。さらに梗塞部位に集積する炎症細胞を flow cytometry 法で解析すると、心臓線維芽細胞特異的 Sipal-コンディショナル KO マウスでは炎症急性期である day 3 での Ly6Chigh 単球(CD45+CD11b+F4/80-Ly6Chigh)の浸潤が有意に低く、qPCR で解析した梗塞部の Interleukin(IL)-1 β 、IL-6 などの炎症性サイトカイン、CCL2/CCL7 などの炎症性ケモカインの発現も顕著に抑制されており、心臓線維芽細胞特異的 Sipal-コン

ディショナル KO マウスにおいて、Sipa1-full KO マウスで見られた表現型が再現されたことを確認した。

WT と Sipa1KO マウスの心臓から酵素処理により線維芽細胞のみを抽出し、LPS で刺激、細胞を回収後、mRNA を抽出し、検討したところ、Sipa1KO 線維芽細胞で Ccl2/Ccl7、さらには Csf2 (GM-CSF) の発現が抑制されていた。RNAseq などの網羅的解析を含めて検討したところ、従来 Sipa1 シグナルの下流分子として知られる Rap1 の発現・活性化には明らかな変化を認めなかった一方で、Sipa1KO 線維芽細胞で RASGRP2-RAS-JNK pathway が有意に低下していた。以上より、MI 後 Danger-Associated Molecular Patterns (DAMPs) により線維芽細胞が刺激され、炎症細胞を梗塞部へリクルートするケモカインの発現が亢進する過程に遺伝子 Sipa1 が深く関与し、MI 後の過剰な炎症を起こす可能性が示唆された。



【考 察】

本研究はMI後組織障害・修復過程におけるSipa1の役割を明らかにしようとする世界初の研究である(図)。最近のGWASやeQTL解析などによって、Sipa1が虚血性心疾患に関係している可能性が示唆され始めてきており(Nat Genet 2017 etc)、実臨床とも関連が深い。申請者は過去に心臓線維芽細胞がMI後にGM-CSFを高発現することを見出したが(Anzai et al. J Exp Med 2017)、本研究でその産生機序にSipa1が強く関与している事実が明らかになる可能性がある。本研究は、網羅的解析により同定し得たSipa1を中心とした心臓線維芽細胞の詳細な機能を明らかにするのみならず、これまで治療標的として注目されながらも、未だ具体的な臨床応用に至っていない炎症細胞の活性化、浸潤経路にも焦点を当てており、新規性、独自性が高いと共に、関連研究の中でのインパクトも高いと考えられる。さらに、従来Sipa1シグナルの下流分子として知られるRap1の発現に大きな変化を認めなかったことより、Sipa1を中心とした新規分子カスケード、生物学的側面の発見に繋がる可能性をも秘めている。Sipa1を標的としたsiRNA投与による癌治療法も過去に報告されており(Nat Genet 2005)、急性期炎症に介入することでMI後心不全を予防する新規治療法へ発展することも期待できると考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

急性心筋梗塞に対する再灌流療法の発達は、急性期死亡率を劇的に低下させたが、重症例の救命によって慢性心不全の有病率をむしろ増加させるというパラドックスを生んだ。MI 後組織修復の過程には免疫応答の賦活化とそれに付随した炎症反応が不可欠であるが、これらが一度過剰になるとかえって組織障害を進展させ、梗塞後心不全を増悪させてしまう。近年、CANTOS 試験(NEJM 2017)など、動脈硬化の二次予防に抗炎症作用を持つ薬剤が有効であることが実臨床でも明らか

となりつつあるが、MI 後に免疫応答や炎症反応が過剰となる機序は未だ不明である。本研究で心臓線維芽細胞由来 Sip1 を中心とした新たな炎症分子カスケードが明らかになれば、梗塞後心不全予防のための創薬基盤につながる可能性があると考えられる。

【参考・引用文献】

Anzai A*, Ko S, Fukuda K. Immune and Inflammatory Networks in Myocardial Infarction: Current Research and its Potential Implications for the Clinic. *Int J Mol Sci*; 23: 5214, 2022 (*corresponding author)