

## クローン性造血への介入による心不全の新規治療戦略

候 聡志

東京大学医学部附属病院 循環器内科  
東京大学大学院医学系研究科 先端循環器医科学講座

### 【研究の背景】

心不全を増悪させる要因として、老化、腎不全、エストロゲン欠乏といった様々な因子があることも知られており、そうした心不全増悪因子の一つにクローン性造血(CHIP)がある。CHIPは近年、動脈硬化の要因として知られているが、申請者らは拡張型心筋症(DCM)による心不全患者において、CHIPが独立した予後不良因子であることをゲノム解析で明らかにすると共に、さらにCHIPのドライバー変異(*Asx11*変異)を持つマウスと*Ttn*変異 DCMモデルマウスを用いてCHIP-DCMモデルマウスを樹立して解析したところ、CHIP陽性のマウス心臓においてはマクロファージを主体とした免疫細胞が活性化することで炎症が惹起されており、それが元からある*Ttn*変異による心不全を一層悪化させることを明らかにした。

### 【目 的】

本研究ではCHIP-DCMモデルマウスやCHIP陽性のヒト心不全患者の心臓組織検体に対してシングルセル解析を主体にした多面的解析を行うことにより、その病態機序を解き明かし新規治療標的を明らかにしていく。

### 【方 法】

心臓組織から核を抽出し、一核RNAシーケンス(snRNA-seq)を行って解析する他、ヒト検体についてはXeniumによる空間遺伝子発現情報解析も行った。新規治療標的候補についてはCHIP-DCMモデルマウスに対して遺伝子改変を追加で行うことにより、その効果検証を行った。

### 【結 果】

CHIP+/-別のDCMマウスに対してsnRNA-seqを行った結果、CHIP-DCMマウスでは心臓組織内にて炎症惹起性のマクロファージ集団が存在することが明らかになった。実際にCHIP-DCM心臓内のマクロファージをFACSで回収して調べたところ、IL-1 $\beta$ の発現が増えていることが分かり、さらにマウスの骨髄を分化させてマクロファージ培養を行うと(BMDM)、NLRP3インフラマソームの刺激に対してIL-1 $\beta$ を有意に多く産生することが分かった。ヒトCHIP+/-別のDCM患者から切除された心臓組織検体を用いてsnRNA-seqを行ったところ、同様に炎症惹起性のマクロファージ集団がCHIP陽性患者特異的に出現していることが分かり、非CHIP患者に比べてその遺伝子発現変動解析によりGene NというlncRNAが特異的マーカー遺伝子として同定された。細胞間相互作用解析ではマクロファージと他の細胞集団(線維芽細胞、血管内皮細胞)との間に炎症や繊維化に関連した細胞間相互作用が亢進していることが分かった。Xeniumを用いた空間遺伝子発現情報解析したところ、やはりGene Nを高発現するマクロファージは他にも炎症性ケモカイン・サイトカインを多く発現しており、近くに存在する線維芽細胞や血管内皮細胞、脂肪細胞といった他の細胞集団と一緒に炎症ニッチを形成していることが確認された。

Gene Nは核内から細胞質中に移行するとNLRP3インフラマソームを刺激する存在として知られており、CHIP-DCMモデ

ルマウスの心臓内マクロファージや BMDM でもその発現は上昇しているのみならず、BMDM を用いた Gene N の RNA *in situ* hybridization の評価では、CHIP 存在下で Gnen N はより細胞質への移行が増えていることが分かった。CHIP-DCM モデルマウスに Gene N をノックアウトすると、CHIP により増悪していた心拡大の抑制及び心収縮能の改善が認められ、組織評価では線維化の改善及び心臓内マクロファージ内の炎症性サイトカイン・ケモカインの発現減少を認めた。

### 【考 察】

これまでのヒト CHIP+DCM 患者及び CHIP-DCM モデルマウスを用いた解析により、CHIP 存在下では Gene N の発現が亢進しており、それが CHIP-DCM 心臓内に特異的に見られるマクロファージの活性化に重要な機能的マーカーであることが判明した。ヒト検体からの空間遺伝子発現情報解析では Gene N 高発現マクロファージは心臓内において周りの細胞を巻き込みながら独自の炎症惹起微小環境を形成していることが示唆され、snRNA-seq による細胞間相互作用解析の結果を裏付けることが可能となった。本研究ではマウスモデルを用いて Gene N のノックアウトが CHIP による心臓への炎症を介した悪影響を緩和し、心保護的に働くことを明らかにした。Gene N は lncRNA であるため、将来的にはそれを阻害・分解するアンチセンスオリゴを免疫細胞に導入するような遺伝子治療であったり、低分子化合物をスクリーニングして開発したりすることで、実臨床応用へとつなげていきたい。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

これまでの CHIP を取り巻く研究はそのほとんどが CHIP による各疾患の予後への影響を調べたものであり、CHIP を保有していることが判明したとしても、その予後リスクに対して介入する方法がないのが問題であった。本研究では有望な CHIP の治療標的を同定したという点は有意義であると考えられる。また、心不全のみならず、CHIP が重要な役割を果たす他の各疾患においても Gene N がどのぐらい病態に関与するか否か、将来的に探究していきたい。

### 【謝 辞】

本研究助成のおかげで多くの論文発表を行うことができました。この場をお借りして深く感謝申し上げます。

### 【参考・引用文献】

- Inoue S, **Ko T (co-first author)**, et al. Association between Clonal Hematopoiesis and Left Ventricular Reverse Remodeling in Non-ischemic Dilated Cardiomyopathy. *JACC Basic Transl Sci.* 2024; 9(8): 956-967.
- Hiruma T, Inoue S, et al. Association of Multiple non-HCM related Genetic Variants with Outcomes in Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy. *JACC Heart Fail.* 2024; 12(12): 2041-2052.
- Dai Z, **Ko T**, et al. Myocardial DNA Damage Is Responsible for the Relationship Between Genotype and Reverse Remodeling in Patients with Dilated Cardiomyopathy. *Circ Heart Fail.* 2024; 17(11): e011879.
- Dai Z, **Ko T (co-first author)**, et al. Myocardial DNA Damage Predicts Heart Failure Outcome in Various Underlying Diseases. *JACC Heart Fail.* 2024; 12(4): 648-661.