

## 免疫細胞の遺伝子変異を手がかりに探る大動脈瘤の新規診断・治療の開発研究

由良義充

名古屋大学医学部附属病院 循環器内科

### 【研究の背景】

骨髄中にある造血幹細胞に後天的に遺伝子変異が生じ、加齢とともに変異細胞が骨髄中で増殖する現象が知られている。この現象はクローン性造血と呼ばれ、近年、虚血性心疾患や心不全などの心血管疾患の危険因子であることが明らかとなり、心血管病の病因を解明するうえで重要な新知見として大きな注目を集めている。

一方、加齢とともに頻度が増加する心臓血管病の中で、大動脈瘤は無症状のうちに進行し、破裂した場合には救命が極めて困難であり、外科的な治療以外に有効な治療が存在しない医療ニーズの高い疾患である。大動脈瘤の進展には、単球やマクロファージ、マクロファージから分化した破骨細胞様細胞による細胞外マトリックスプロテアーゼの過剰分泌が関連することが指摘されているが、クローン性造血が大動脈瘤の進行に与える影響については不明である。

### 【目 的】

本研究の目的は、クローン性造血に注目して、大動脈瘤の新しい病態メカニズムを明らかにし、新たな診断・治療法の開発を目指すことである。

### 【方 法】

実験 1: クローン性造血モデルマウスにおける大動脈瘤病態の評価

DNA 脱メチル化酵素 TET2 欠損マウス (Tet2<sup>-/-</sup>) から骨髄細胞を採取し、放射線照射した ApoE 欠損マウスへ骨髄移植することで、造血幹細胞に Tet2 変異を有するクローン性造血モデルマウスを作製する。作製したマウスに Angiotensin II 刺激を加え、大動脈径を経時的に心エコーで測定する。さらに結合組織染色により、大動脈中膜弾性線維の形態変化 (菲薄化、断裂) を評価した。

実験 2: Tet2 変異免疫細胞が大動脈拡張を促進する機序解析

Angiotensin II 刺激後の大動脈壁に浸潤したマクロファージを FACS で回収し、RNA シークエンス解析を行う。得られた遺伝子発現情報から炎症関連遺伝子に加えて破骨細胞関連遺伝子 (ACP5/TRAP など) の発現変化を評価する。加えて、骨髄由来マクロファージを用いた *in vitro* 実験として、RANKL 添加により破骨細胞様分化を誘導し、Tet2 変異群と対照群で分化傾向を比較する。さらに、マクロファージの破骨細胞様分化を抑制する薬剤 (ビスホスホネート) を用い、治療効果を検証した。

実験 3: 大動脈瘤患者におけるクローン性造血と臨床経過の関連

ステントグラフト内挿術を受ける大動脈瘤患者の末梢血から DNA を抽出し、エラー修正ターゲット次世代シークエンスによりクローン性造血プロファイル (変異の有無、程度) を同定する。手術に至るまでの大動脈瘤の拡大経過を後ろ向きに確認し、クローン性造血と瘤径拡大の関連を検証した。

【結 果】

実験 1

変異群ではコントロール群と比較して有意に大動脈径が拡大し、組織学的にも弾性線維の菲薄化や断裂が顕著に認められた。病態発症時の大動脈壁フローサイトメトリー解析では、骨髄由来マクロファージの有意な浸潤が確認された。免疫染色では、変異マクロファージが血管内皮細胞下に著しく浸潤し、その周囲で平滑筋細胞層のリモデリングが観察された。以上より、クローン性造血が大動脈瘤病態を悪化させ、骨髄由来マクロファージが病態形成に重要な役割を担う可能性が示された。

実験 2

大動脈浸潤 Tet2 変異マクロファージの bulk RNA-seq で、ACP5 (TRAP) や CTSK など破骨細胞分化関連分子の高発現が確認された。骨髄由来マクロファージへの RANKL 刺激では、Tet2 変異マクロファージで TRAP 陽性破骨細胞様細胞への分化が促進された。qPCR では、RANKL 刺激後に Tet2 変異マクロファージで MMP-9 が著明に誘導されていた。さらに、ビスホスホネート投与により、Tet2 変異群の大動脈瘤病態進行が抑制された。

実験 3

患者検体 44 例を回収し次世代シーケンス解析を行ったところ、約 6 割の患者で少なくとも一つ以上のクローン性造血遺伝子変異を検出した。さらに、クローン性造血を有する大動脈瘤患者は、有さない患者と比較して、術前画像の経時変化から算出した瘤径の拡大速度が有意に速いことが確認された。

【考 察】

クローン性造血モデルマウスを用いた実験から、クローン性造血が大動脈瘤を悪化させること、そのメカニズムとして変異マクロファージの破骨細胞様分化が病態形成に重要であることが明らかになった。大動脈瘤患者の検体解析から、基礎実験で得られた知見の妥当性が検証された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により、クローン性造血が大動脈瘤を悪化させること、およびそのメカニズムが明らかになった。今後クローン性造血プロファイルによって予後不良群を同定し、必要に応じて追加治療を加えるという個別化医療の創出につながる可能性を有する。

