89. 心血管不全に対する新規治療法開発の基礎的研究

野出　孝一

佐賀大学 医学部 循環器内科

Key words：心血管不全，心血管炎症，抗炎症性サイトカイン，IL-27・WSX-1

緒　言

動脈硬化性疾患は増加の一途をたどり、その発症機序の解明と新規診断・治療法の開発は社会的急務となっている。多くの臨床及び基礎研究によって、糖尿病や脂質異常症といった代謝異常症を背景として活性化 Th1 細胞と炎症性サイトカインにより促進される血管壁の慢性炎症が動脈硬化の進展を促進することが示されてきた［1］。

また、我が国においては約 200 万人の心不全患者が存在すると推定され、高齢化の進行により患者数の急速な増加が危惧される。近年各種薬剤を用いた神経体液性因子及び心臓リモデリングの改善により心不全の予後が改善することが明らかにされたが、その効果は未だ不十分で薬物治療抵抗例も多い。このため治療標的の探索を含めた新しい心不全治療薬の開発が強く求められている。これまでの報告では、Th1 リンパ球の活性化と炎症性サイトカインによる心血管炎症が心不全に重要な役割を果たすことが明らかにされてきた［2］。

したがって、心血管炎症のメカニズムの解明と制御法の開発は動脈硬化性疾患および心不全の進展抑制に対する新規治療法開発につながると考えられる。共同研究者である吉田らは 、IL-12 ファミリーに属する IL-27 の受容体を構成する *WSX-1* を欠損するマウスをジーンターゲッティング法により樹立し、*WSX-1* 欠損マウスでは病原体感染によって炎症性サイトカインの過剰産生と遷延する炎症性組織障害が誘導されることを示した。これにより IL-27・WSX-1 シグナルの炎症性サイトカイン産生抑制による抗炎症効果を明らかにした［3，4］。

そこで、本研究では IL-27・WSX-1 の動脈硬化抑制作用の検討と IL-27・WSX-1 シグナル活性化法の探索 IL-27・WSX-1 の心不全抑制作用の検討を行った。さらに臨床的観点より、急性心筋梗塞患者の血中 IL-27 値を測定し、急性期の時間変化と抗炎症作用を有するアトルバスタチン投与の影響を解析することにより、血中 IL-27 値が心血管不全の指標となる可能性を臨床的に検討する

方　法

1. IL-27・WSX-1 の動脈硬化抑制作用の検討

動脈硬化モデルである LDL 受容体欠損マウスと *WSX-1* 欠損マウスを交配し、LDL 受容体・*WSX-1* 二重欠損マウスを作製した。LDL 受容体欠損マウスと LDL 受容体・*WSX-1* 二重欠損マウスに高脂肪食を投与し、大動脈壁における動脈硬化巣の面積と組織性状、培養腹腔内マクロファージのサイトカイン発現と蛍光ラベル LDL 取り込み能を比較検討した。また、これらマウスに高脂肪食投与に加えてアンジオテンシンⅡ投与による腹部大動脈瘤発生の頻度を比較した。

2. IL-27・WSX-1 の心不全抑制作用の検討

野生型マウスと *WSX-1* 欠損マウスにイソプロテレノール投与、アンジオテンシン投与を行い、心肥大を心エコー図法と組織重量、心筋細胞サイズを摘出した心臓組織において評価した。また、摘出した心臓組織における心筋繊維化・冠動脈周囲繊維化、マクロファージおよび Th1 細胞浸潤、アポトーシス細胞数、胎児型遺伝子発現を検討した。

培養ラット新生仔心筋細胞を用いてリコンビナント IL-27 のイソプロテレノール刺激あるいはアンジオテンシン刺激により誘導される心筋細胞肥大・胎児型遺伝子発現に対する抑制作用を *in vitro* において検討した。

3. 心血管不全マーカーとしての IL-27 の可能性に関する検討

急性心筋梗塞患者 60 名（再開通療法直前にアトルバスタチンを投与開始したもの 30 名、投与開始しなかったもの 30 名）において、ELISA 法により血中 IL-27 を投与開始前、投与 24 時間後、48 時間後、14 日後に測定した。

結果および考察

1. IL-27・WSX-1 の動脈硬化抑制作用

高脂肪食により誘導される動脈硬化巣の面積は、LDL 受容体欠損マウスに比して LDL 受容体・*WSX-1* 二重欠損マウスにおいて、有意に大きかった。組織学的には動脈硬化巣内に浸潤したマクロファージおよび Th1 細胞が LDL 受容体欠損マウスに比して LDL 受容体・*WSX-1* 二重欠損マウスにおいて多かった [5]。また、アンジオテンシンⅡで誘導される大動脈瘤の発生頻度も LDL 受容体欠損マウスに比して LDL 受容体・*WSX-1* 二重欠損マウスにおいて高かった。

培養腹腔内マクロファージの炎症性サイトカイン発現と蛍光ラベル LDL 取り込みは、LDL 受容体欠損マウスに比して LDL 受容体・*WSX-1* 二重欠損マウスにおいて増加した。以上から、*WSX-1* 欠損による IL-27 シグナルの欠損は、マクロファージを活性化し動脈硬化性疾患の進展を促進すると考えられ、IL-27・WSX-1 は動脈硬化抑制作用を有することが示唆された（図 1）。

2. IL-27・WSX-1 の心不全抑制作用の検討

イソプロテレノールやアンジオテンシンⅡで誘導される心肥大、心筋組織線維化、心筋組織内マクロファージおよび Th1 細胞浸潤、アポトーシス細胞数、心筋組織の胎児型遺伝子発現は、野生型マウスに比して *WSX-1* 欠損において増加した。培養ラット新生仔心筋細胞においては、イソプロテレノールやアンジオテンシンⅡで誘導される細胞サイズの増加、胎児型遺伝子発現は、リコンビナント IL-27 の存在下では減弱した。したがって、IL-27・WSX-1 は心肥大抑制作用を有すると考えられ、心不全進展に対して抑制的に作用することが示唆された（図 1）。

3. 心血管不全マーカーとしての IL-27 の可能性

急性心筋梗塞患者では、対照群・アトルバスタチン投与群ともに急性期発症 24 時間後にかけて血中 IL-27 が一過性に減少しその後増加したが、その増加は小炎症作用を有するアトルバスタチンを投与した群で大きい傾向にあった（図 2）。したがって、血中 IL-27 値は心血管炎症マーカーとなりうる可能性が示唆され、今後各種心血管疾患における検証が必要であると考えられる。

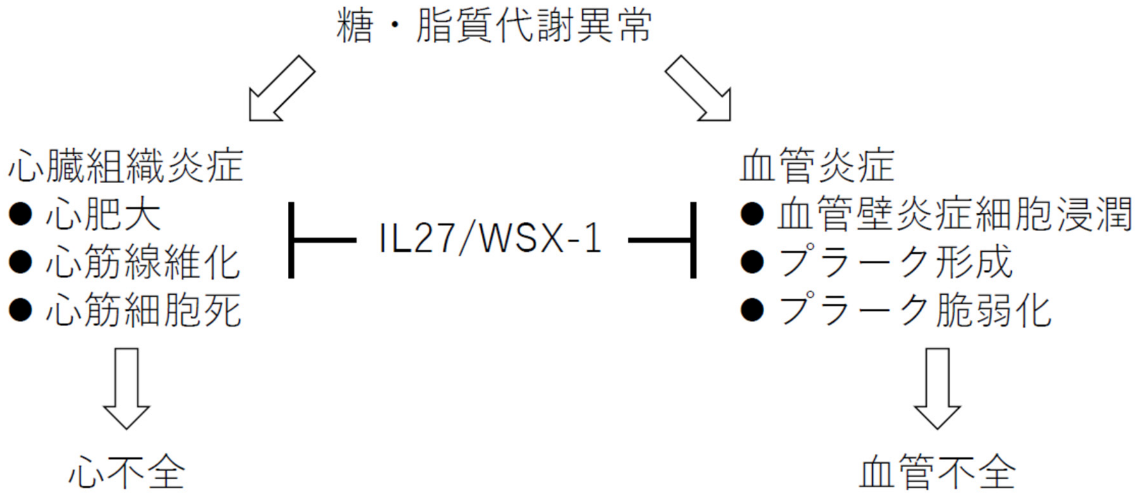

図 1. IL-27 の心血管不全抑制作用

IL-27/WSX-1 は、動脈硬化の進展においてはマクロファージの活性化を介した血管壁炎症を抑制することが示唆される。また、心不全につながる心臓組織炎症を抑制すること考えられ、IL-27/WSX-1 は、心血管炎症の抑制を介して心血管不全の抑制作用を有する可能性が考えられた。

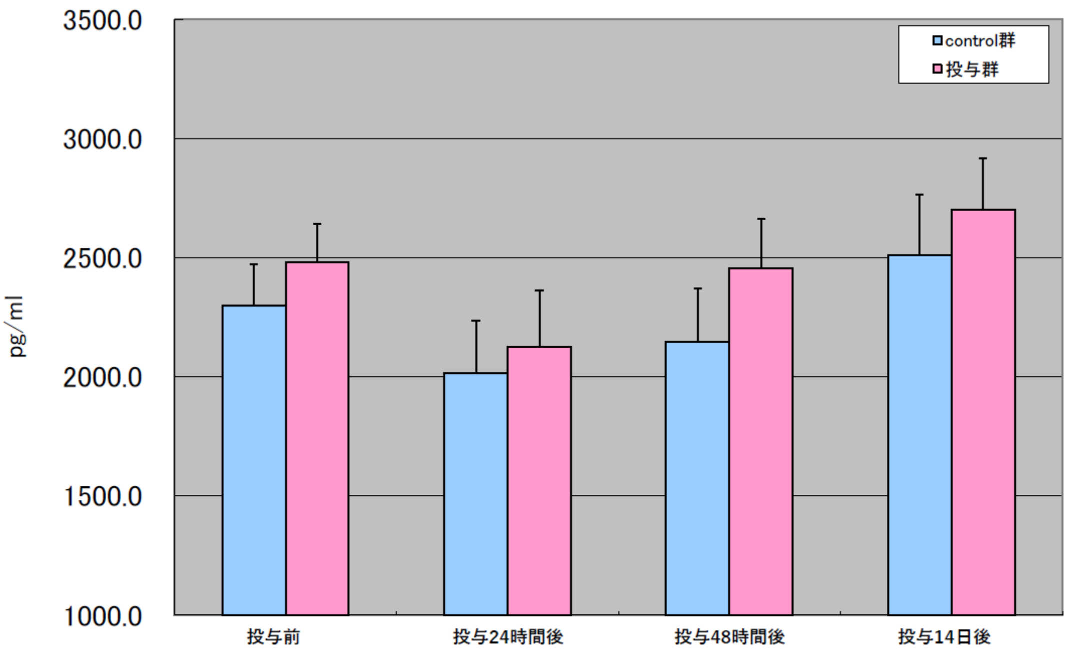

図 2. 急性心筋梗塞患者に対して発症早期にアトルバスタチンを投与した際の血中 IL-27 値の推移
急性心筋梗塞患者 60 名（再開通療法直前にアトルバスタチンを投与開始したもの 30 名、投与開始しなかったもの 30 名）において、ELISA 法により血中 IL-27 を投与開始前、投与 24 時間後、48 時間後、14 日後に測定したところ、対照群・アトルバスタチン投与群ともに急性期発症 24 時間後にかけて血中 IL-27 が一過性に減少しその後増加したが、増加はアトルバスタチン投与群で大きい傾向にあった。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、佐賀大学医学部生体機能制御学の吉田裕樹教授である。

文　献

1) Hirase T, Node K. Endothelial dysfunction as a cellular mechanism for vascular failure.　Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2012 Feb 1;302(3):H499-505. doi: 10.1152/ajpheart.00325.2011.PMID:22081698
2) Bacmeister L, Schwarzl M, Warnke S, Stoffers B, Blankenberg S, Westermann D, Lindner D. Inflammation and fibrosis in murine models of heart failure.　Basic Res Cardiol. 2019 Mar 18;114(3):19. doi: 10.1007/s00395-019-0722-5. PMID:30887214
3) Yoshida H, Hamano S, Senaldi G, Covey T, Faggioni R, Mu S, Xia M, Wakeham AC, Nishina H, Potter J, Saris CJ, Mak TW. WSX-1 is required for the initiation of Th1 responses and resistance to L. major infection. Immunity. 2001 Oct;15(4):569-78. PMID:11672539
4) Yoshida H, Hunter CA. The immunobiology of interleukin-27. Annu Rev Immunol. 2015;33:417-43. doi: 10.1146/annurev-immunol-032414-112134. PMID:25861977
5) Hirase T, Hara H, Miyazaki Y, Ide N, Nishimoto-Hazuku A, Fujimoto H, Saris CJ, Yoshida H, Node K. Interleukin 27 inhibits atherosclerosis via immunoregulation of macrophages in mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2013 Aug 1;305(3):H420-9. doi: 10.1152/ajpheart.00198.2013.