



Title	心筋梗塞病態における新規ミエロイド細胞の同定と機能解明
Author(s)	富松, 聖史
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/105581
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (富 松 聖 史)	
論文題名	心筋梗塞病態における新規ミエロイド細胞の同定と機能解明
論文内容の要旨	
【背景・目的】 心筋梗塞 (Myocardial Infarction: MI) は血栓やプラークの形成を成因に冠動脈が閉塞する疾患である。急性期に虚血あるいは虚血/再灌流により心筋組織が傷害を受けるが、その後、亜急性期あるいは慢性期に心筋傷害はさらに広がり、心機能が低下して、終末像である心不全病態へと陥る。MI後に発症する心不全は既存の薬物治療に対して抵抗性を示す。このことより、MI発症後心不全に至る過程 (心筋リモデリング) を標的とした新たな治療法の開発が望まれている。 心筋リモデリングにおいて、好中球やマクロファージといったミエロイド細胞が重要な役割を果たす。心筋リモデリングにおけるミエロイド細胞の機能は、炎症/抗炎症と二分することで説明されてきた。他方、近年のNGS解析の進歩によりミエロイド細胞の機能はより多様であることが明らかになりつつある。このように、心筋リモデリングに対する炎症制御機構の解明には、ミエロイド細胞の機能をより詳細にサブグループ化したうえで理解することが重要であると考えられている。 本研究では、MI後に心筋組織に集積するミエロイド細胞について1細胞単位で遺伝子発現プロファイルを解析することで、新たな細胞集団を探索し、その心筋リモデリングにおける意義の解明を行うことを目的とした。 【方法・結果】 MIモデルマウスはC57BL/6J雄性マウスの左前下行枝を結紮することで作製した。MI7日目の梗塞心からミエロイド細胞を単離後、1細胞RNAシーケンス解析 (scRNA-seq) を行った。解析の結果、梗塞後の心筋組織には単球・マクロファージや好中球といった細胞種のほかに、何れもの細胞種マーカーを発現しない細胞集団が存在することを見出した。また、該当の細胞集団ではTGFβ familyの成熟化プロセスを担うタンパクであるGlycoprotein A Repetitions Predominant (GARP) の発現を特徴としていることを見出した。そこで該当の細胞集団をGARP-expressing myeloid cells (GEM cells) とし、GEM cellsの心筋リモデリングにおける機能を明らかにするべく検討を行った。 Flow cytometerを用いた解析により、GEM cellsはMI4日目の心筋組織内において最も確認されることを見出した。次に、GEM cellsの遺伝子発現プロファイルをより詳細に解析するためにbulk RNA-sequence解析を行った。解析の結果、対照群と比較してGEM cellsでは各細胞種マーカー遺伝子の発現が低いことが明らかとなった。また、Gene Ontology解析よりGEM cellsではTGFβ signalに関連する遺伝子群の発現を特徴としていた。以上より、GEM cellsではTGFβ signalが活性化されており線維芽細胞様の性質を有することが示された。 ミエロイド細胞特異的GARP欠損マウス (CK0マウス) を作製し、野生型及びCK0マウスにMIを施し、心エコー解析により心機能への影響の評価を試みた。CK0マウスでは梗塞後の心機能悪化が抑制されることを見出した。次に、MI28日目の心臓切片を用いたMasson's Trichrome染色より、CK0マウスではMI後の線維化の進行が抑制されていることが明らかとなった。さらにqRT-PCRより、線維化関連因子の発現についてもCK0マウスで抑制されていることを確認した。以上より、GEM cellsはGARPを介して心筋リモデリングの増悪に寄与している可能性が示唆された。 ①CK0マウスでは好中球の浸潤が減少していたこと、②好中球は傷害を受けた心筋細胞からのDAMPsに誘導されて梗塞心に浸潤すること、③梗塞後の心筋細胞の生存が予後に寄与すること、の3点より心筋細胞の細胞死に着目した検討を行った。WT及びCK0マウスのMI4日目の心組織における細胞死の評価を行っところ、CK0マウスではTUNEL陽性心筋細胞数が抑制されていた。 次に、TGFβ signalの下流分子であるSmad2に対する抗体を用いて免疫染色を行った。その結果、CK0マウスの心筋細胞においてSmad2の核移行抑制、つまりTGFβ signalの活性化が抑制されていることを見出した。TGFβ 受容体の阻害剤 (SB431542, 10 mg/kg, i.p every day) を投与したところ、WTマウスでは心筋細胞死の抑制が確認され	

た。他方、CKOマウスでは阻害剤投与による心筋細胞死抑制効果は認められなかった。以上より、GEM cellsは心筋細胞のTGF β signalを介して細胞死を誘導することで、心筋リモデリングを増悪させることが示唆された。

これまでの検討において、GEM cellsはミエロイド細胞と線維芽細胞の両方の性質を持ち合わせることを明らかにしている。このような性質を持ち合わせる細胞種としてfibrocyteが報告されている。このことより、GEM cellsはfibrocyteから分化する細胞集団であると仮定し検討を行った。まず、マウス健常心臓のscRNA-seqデータ (E-MTAB-6173) を取得し、我々のデータと統合し再解析を行った。その結果、GEM cellsを含むClusterはfibrocyteと単一のClusterを構成することを明らかにした。また、疑似時間解析よりfibrocyteからGEM cells方向への分化の軌跡が確認された。以上より、GEM cellsは組織常在性fibrocyteから分化する細胞集団であることが示唆された。

本研究におけるTransrational Researchとしての意義を確認すべく、GEM cellsがヒトの虚血性心疾患患者においても確認されるか検討した。Visium (PMID35948637) データを取得し再解析したところ、CD11bとGARPを共発現する領域が存在することを見出したことから、ヒト検体においてもGEM cellsが存在することが示唆された。

【考察】

本研究では、梗塞後心筋組織内に存在するミエロイド細胞の中に機能未知の細胞集団 GEM cellsを見出し、TGF β signalを介して心筋細胞死を誘導することでadverse cardiac remodelingを誘導していることを見出した。本研究成果は現在の臨床上の課題である、梗塞後炎症反応を標的とした新たな治療法の開発を提案するものである。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (富 松 聖 史)			
論文審査担当者	(職)		氏 名
	主 査	教授	藤 尾 慈
	副 査	教授	深 田 宗一朗
	副 査	教授	齊 藤 達哉

論文審査の結果の要旨

心筋梗塞（Myocardial Infarction: MI）は急速に冠動脈が閉塞し、心筋組織が傷害を受ける疾患である。MI発症後急性期には虚血あるいは虚血/再灌流により心筋組織が傷害を受けるが、その後、さらに亜急性期あるいは慢性期にも心筋傷害が進展し、心不全にいたる。MIをはじめとするさまざまな心筋傷害から心不全に至る過程は、心筋リモデリングと呼ばれており、好中球やマクロファージといったミエロイド細胞が重要な役割を果たすことがこれまで知られてきた。本論文において、著者は、MI後に心筋組織に集積するミエロイド細胞について1細胞単位で遺伝子発現プロファイルを解析することで、新たな細胞集団を見出し、心筋リモデリングにおける意義の解明を行った。

雄性マウスの左前下行枝を結紮することで作製したMIモデルにおいて、梗塞心からミエロイド細胞を単離後、1細胞RNAシーケンシス解析（scRNA-seq）を行った。解析の結果、梗塞後の心筋組織には単球・マクロファージや好中球といった細胞種のほかに、これまで報告されていない細胞集団を見出した。当該細胞集団は、TGF- β familyの成熟化プロセスを担うタンパクであるGlycoprotein A Repetitions Predominant（GARP）を特異的に発現していることを見出し、GARP-expressing myeloid cells（GEM細胞）と名付け、GEM細胞の性質を解明するとともに梗塞後心筋リモデリングにおける意義を明らかにした。

GEM細胞の性質に関して、著者は以下の点を報告している：まず、CD11bとGARPを指標にGEM細胞を調整し、RNA-seq解析を行い、GEM細胞が線維芽細胞様の性質を有することを見出した。次にマウス健常心臓のscRNA-seqデータを取得し再解析を行った結果、GEM細胞を含むClusterは、健常心臓に存在するfibrocyteと共通のClusterを構成すること、また、疑似時間解析よりGEM細胞は組織常在性fibrocyteから分化する細胞集団であることが示唆された。

また、GEM細胞の梗塞後心筋リモデリングにおける意義を明らかにするために、ミエロイド細胞特異的GARP欠損マウス（CKOマウス）を用いてMIを作製し、CKOマウスでMI後心筋リモデリングが抑制されることを見出した。さらにそのメカニズムとして、CKOマウスでは心筋細胞死が抑制されること、および好中球の浸潤が抑制されることを提唱している。

以上、本論文は、梗塞後心筋組織に出現する新規骨髄由来細胞を同定し、その機能を解明したものである。本研究成果は、心筋リモデリングの分子機序に関して新たな概念を提唱するものであること、さらに当該細胞を標的とした心筋リモデリング抑制治療の開発を期待させるものであることにより、博士（薬科学）に値するものと認める。