

## 心不全における非心筋細胞の役割の全貌解明と多臓器連関の 解明に基づく新規治療法開発

本研究では、心不全モデルマウスを用いて、心不全時に活性化される特定の線維芽細胞の集団を特定した。この細胞集団は、癌原遺伝子 MYC という転写因子が顕著に発現しており、これが CXCL1 という細胞間の情報伝達に関わる物質を誘導していた。さらに、CXCL1 は心筋細胞に存在する受容体 CXCR2 に作用し、心筋細胞の収縮機能を直接低下させることも明らかにした。具体的には、MYC を線維芽細胞で欠失させたマウスでは、心不全モデルでの心機能の悪化が抑えられ、逆に MYC を強制的に発現させたマウスでは心機能が著しく低下した。また、CXCL1-CXCR2 の阻害薬を投与することで、心不全による心機能の低下を抑えられることも示した。これらの知見は、心不全の発症・進行において、心筋細胞だけでなく、線維芽細胞も積極的に関与していることを示す重要な証拠となる。加えて、ヒトの心不全患者由来の心臓組織を解析したところ、マウスで得られた知見と同様に、心不全の線維芽細胞において MYC が発現し、MYC-CXCL1 のシグナルが活性化されることが示唆されており、本研究の成果がヒト心不全にも応用可能であることが確認された。

※, ※※ ※※ ※ ※※, ※※※  
小室 仁 橋本 寿之 小室 一成 湯浅 慎介

### 緒 言

心不全 (HF) の患者数は世界的に増加しており、HF は加齢による死因の中で最も多いものの一つである<sup>1)</sup>。多くの心不全の発症機序に関する研究はこれまでほとんどが心筋細胞 (CM) に関する研究であった。しかし、CM は心臓を形成する細胞の 20 ~ 30% を占めるに過ぎず、70% 以上は内皮細胞、線維芽細胞、平滑筋細胞、血液細胞などの非心筋細胞である<sup>2)</sup>。ことが知られるようになり、このことは、非心筋細胞が HF 発症において極めて重要な役割を果たす可能性を示唆し、非心筋細胞の心臓における役割が着目されるようになってきた。

非心筋細胞の中でも、心臓線維芽細胞 (CF) は、

CM を含む複数の細胞種と強く相互作用している<sup>3)</sup>が、CF は、特に心筋梗塞 (MI) 後の線維化という観点から主に研究されてきた。CF は心筋梗塞後に活性化され、癒痕を安定化させるために多くの種類の細胞外マトリックスタンパク質を発現する<sup>4)</sup>。著明な線維化は不全心においても観察され<sup>5)</sup>、左室の硬さを増加させることによって拡張機能障害に関与していることが報告されているが<sup>6)</sup>、CF が収縮機能障害を引き起こすかどうかは不明である。

### 目 的

本研究は、CFs の HFrEF における役割を明らかにし、心不全の新規治療標的の可能性を探ることを目的とした。

### 方 法

マウスに横大動脈縮窄術 (TAC) を施行し、2 週間後を心肥大期 (TAC2w)、12 週間後を心不全期 (TAC12w) として解析を行った。単一細胞 RNA-seq

※東京大学大学院 医学系研究科先端循環器  
医科学講座  
※慶應義塾大学医学部 循環器内科  
※※岡山大学学術研究院 医歯薬学域  
(医) 循環器内科学

心不全における非心筋細胞の役割の全貌解明と多臓器連関の解明に基づく新規治療法開発

により心臓の非心筋細胞を解析し、さらにCFを再クラスタリングして心不全期特異的に出現するCFの役割に関して検証した。遺伝子改変マウスを用いた実験にて心不全特異的CFの役割を検証し、*in vitro*の解析にて分子メカニズムを解明した。さらに、ヒト心不全検体でも同様の経路の存在を検証した。

結果

scRNA-seqによりCFには不均一性が存在し、6つのサブクラスターに分かれた。その中には、心不全期にのみ特異的に出現する線維芽細胞集団(HF-Fibro)が存在した。HF-Fibroを規定する転写因子を探索したところ、MYCが特異的に高発現していた。MYCの発現動態をflow cytometry, smFISH, 免疫染色, Western blotでも確認した。MYCのHF-Fibroにおける働きを検証するためCF特異的MYC過剰発現(OE)およびノックアウト(KO)マウスを作成したところ、MYC陽性CFsは圧負荷後心不全進行に伴って増加し、OEマウスでは心機能が悪化、KOマウスでは改善した。心肥大・心不全関連遺伝子の発現はMYCの発現と相関したが、線維化には影響しなかった。

線維芽細胞におけるMYCが心筋細胞機能を抑制する機序として、パラクライン因子の影響を想定した。RNA-seqとChIP-qPCRにより、MYCはケモカインCxcl1の発現を直接制御しており、Cxcl1は培養心筋細胞において心不全関連遺伝子を誘導し、収縮機能を低下させた。心筋細胞はその受容体Cxcr2を発現しており、中和抗体やAAVベクターによるCxcl1またはCxcr2のノックダウンはTACによる心機能低下を抑制した。最後に、ヒト心不全心でもCFsにおけるMYCとCXCL1の発現が確認され、iPS由来心筋細胞においてもCXCL1は収縮障害を誘導した<sup>7)</sup>(図1)。

結論

本研究により、HFに特異的なCFサブタイプ(HF-Fibro)がMYC依存的にCxcl1を分泌し、心筋細胞のCxcr2を介して心不全を惹起するという新たな経路が明らかになった。CFsは単なる線維化の担い手ではなく、MYC-Cxcl1-Cxcr2経路を通じて心筋細胞に直接作用しうる事が示された。これらの知見は、非心筋細胞に着目した新たな心不全治療の可能性を示唆するものであり、今後の研究と臨床応用への発展が期待される。

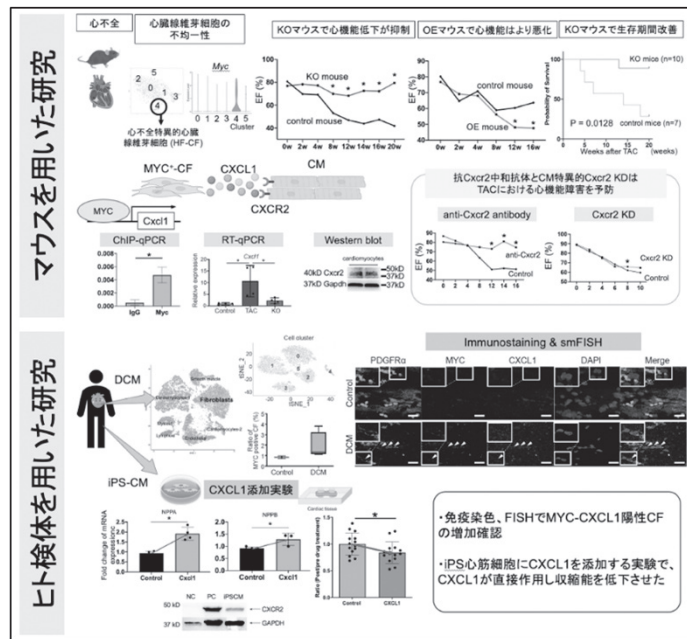


図1 これまでの研究成果

文 献

- 1) Braunwald, E. The war against heart failure: The Lancet lecture. *The Lancet* 385, 812–824 (2015).
- 2) Pinto, A. R, Ilinykh, A, Ivey, M. et al. Revisiting cardiac cellular composition. *Circ Res* 118, 400–409 (2016).
- 3) Ko, T, Fujita, K, Nomura, S. et al. Cardiac fibroblasts regulate the development of heart failure via Htra3-TGF- $\beta$ -IGFBP7 axis. *Nat Commun* 13, 1–17 (2022).
- 4) Fu, X, Khalil, H, Kanisicak, O. et al. Specialized fibroblast differentiated states underlie scar formation in the infarcted mouse heart. *Journal of Clinical Investigation* 128, 2127–2143 (2018).
- 5) Aghajanian, H, Kimura, T, Rurik, J. et al. Targeting cardiac fibrosis with engineered T cells. *Nature* 573, 430–433 (2019).
- 6) González, A., Schelbert, E. B., Díez, J. & Butler, J. Myocardial Interstitial Fibrosis in Heart Failure: Biological and Translational Perspectives. *J Am Coll Cardiol* 71, 1696–1706 (2018).
- 7) Komuro J, Hashimoto H, Katsuki T, et al. Failing heart-specific cardiac fibroblasts induce heart failure via MYC. *Nat Cardiovasc Res* (in press).

心不全における非心筋細胞の役割の全貌解明と多臓器連関の解明に基づく新規治療法開発

ELUCIDATION OF THE ROLE OF NONCARDIOMYOCYTES IN HEART FAILURE AND DEVELOPMENT OF NEW TREATMENT METHODS BASED ON THE ELUCIDATION OF MULTI-ORGAN INTERACTIONS.

※, ※※ ※※ ※ ※※, ※※※  
Jin KOMURO, Hisayuki HASHIMOTO, Issei KOMURO, Shinsuke YUASA

※ Department of Frontier Cardiovascular Science, Graduate School of Medicine,  
The University of Tokyo

※※ Department of Cardiology, Keio University School of Medicine

※※※ Department of Cardiovascular Medicine, Okayama University Graduate School of  
Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

In this study, using a mouse model of heart failure, we identified a distinct subpopulation of fibroblasts that becomes activated during the development of heart failure. This fibroblast population is characterized by prominent expression of the oncogenic transcription factor MYC, which induces the expression of CXCL1, a chemokine involved in intercellular communication. We further demonstrated that CXCL1 acts on its receptor CXCR2, which is expressed on cardiomyocytes, thereby directly impairing cardiomyocyte contractile function.

Specifically, mice with fibroblast-specific deletion of Myc exhibited attenuated deterioration of cardiac function under heart failure conditions, whereas mice with forced overexpression of Myc in fibroblasts showed markedly worsened cardiac dysfunction. Moreover, pharmacological inhibition of the CXCL1–CXCR2 signaling axis significantly alleviated cardiac functional decline in heart failure models.

These findings provide compelling evidence that fibroblasts actively contribute to the onset and progression of heart failure, rather than serving merely as passive mediators of fibrosis. Furthermore, analysis of human failing heart samples revealed that, similar to the observations in mice, fibroblasts in human heart failure express MYC and exhibit activation of the MYC–CXCL1 signaling pathway. This suggests that the mechanisms identified in this study are conserved in human disease and may represent a therapeutically targetable pathway in heart failure.