

## $\alpha$ ガラクトシルセラミドパルス樹状細胞を用いた ナチュラルキラーT細胞活性化による特発性拡張型心筋症に 対する新たな治療法の確立

九州大学病院循環器内科・特任助教 池田 昌隆



### 背景と目的

特発性拡張型心筋症 (idiopathic dilated cardiomyopathy; DCM) は様々な遺伝子異常や後天的な心筋傷害により生じる左室の拡大と収縮不全を特徴とする予後不良の心疾患です。様々な内科的および外科的な治療の発展にも関わらず、DCMは進行性であり、本邦における心臓移植の適応疾患として最多となっています。しかしながら、心臓移植のドナーが圧倒的に不足している本邦においては、心臓移植を回避するためのDCMに対する新たな内科的治療の開発が喫緊の課題です。

これまでに我々の研究室では、1) 心不全の進行において慢性炎症が関与すること、2) ナチュラルキラー T (natural killer T; NKT) 細胞の活性化が心筋梗塞後に生じる虚血性心筋症において生じる慢性炎症、さらに心不全の進行を抑制すること、を示してきました。しかしながら、DCMにおけるNKT細胞活性による治療の有効性、そしてその作用機序は明らかではありませんでした。またNKT細胞を活性化させる特異的な抗原である $\alpha$ ガラクトシルセラミドはヒトでは重篤な肝障害を引き起こすことから、直接投与することができません。そのため、ヒトでNKT細胞を活性化させるには、一旦体外に単離した樹状細胞に $\alpha$ ガラクトシルセラミドを取り込ませることで $\alpha$ ガラクトシルセラミド樹状細胞を作製し、作製した細胞を投与する方法を用いる必要がありますが、本細胞治療のDCMにおける有効性とその作用機序は明らかにはなっていませんでした。

本研究では、DCM動物モデルにおいて $\alpha$ ガラクトシルセラミド樹状細胞を用いた細胞療法の有効性およびその作用機序を明らかにすることを目的としました。

### 方法

- ① ヒトから単離した樹状細胞を体外で培養し、シャーレ上で $\alpha$ ガラクトシルセラミドを取り込ませることで $\alpha$ ガラクトシルセラミド樹状細胞を作製しました。
- ② 作製した $\alpha$ ガラクトシルセラミド樹状細胞をトロポニンT変異型DCMモデルマウスに投与し、病態評価および遺伝子発現の網羅的な解析 (microarray解析) を行いました。
- ③ 培養心筋細胞・線維芽細胞において $\alpha$ ガラクトシルセラミド樹状細胞投与によるNKT細胞活性化のDCMにおける有効性に関する分子機序を検討しました。

### 結果

作製した $\alpha$ ガラクトシルセラミド樹状細胞をマウスに投与したところ、NKT細胞が産生するIFN $\gamma$ 、IL-4、IL-10などのサイトカインが上昇し、作製した細胞がNKT細胞を活性化させることが確認できました。次に、DCMモデルマウスに投与したところ、投与後のDCMモデルマウスの予後が改善し、左室機能が維持されることが分かりました。

そこで、DCMモデルマウスの心筋組織の遺伝子発現を網羅的に解析したところDCMでは、血管新生を担う遺伝子 (Angiopoietin 1; Angpt1) が低下し、線維化を促進するTGF- $\beta$ の作用が亢進していることが分かりました。DCMを含む心不全の心筋組織では細胞肥大が生じる一方、血管新生が不十分であり、

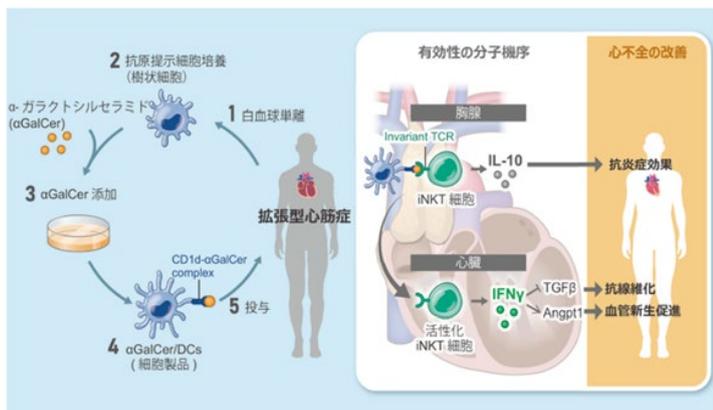
心筋細胞への血液供給が不足することが心筋収縮力低下の原因の一つとされています。また心臓組織の線維化は心臓を固くすることでポンプとしての機能を低下させます。 $\alpha$  ガラクトシルセラミド樹状細胞の投与によるNKT細胞の活性化は、DCMの心筋組織においてAngpt1の遺伝子発現を亢進させ、血管新生を促進させる一方、線維化促進因子であるTGF- $\beta$ の作用を減弱させ、線維化を抑制していることが分かりました。

上記の分子機序を調べるため、培養心筋細胞と心臓線維芽細胞にNKT細胞が分泌する主要なサイトカインであるIFN $\gamma$ 、IL-4、IL-10を添加し、TGF- $\beta$ の作用分子であるSMAD2/3の活性（心臓線維芽細胞）とAngpt-1の発現（心筋細胞）を検討しました。その結果、IFN $\gamma$ の添加によりTGF- $\beta$ により誘導されるSMAD2/3の活性化は抑制され、Angpt1の発現が亢進しました。一方、IFN $\gamma$ で認められたTGF- $\beta$ シグナルの抑制とAngpt1の亢進は、IL-4、IL-10の添加では認められませんでした。

以上の結果から、DCMにおいて $\alpha$ ガラクトシルセラミド樹状細胞投与はNKTを活性化し、活性化されたNKT細胞から分泌されるIFN $\gamma$ によりAngpt1による血管新生を促進し、TGF- $\beta$ による線維化を抑制することでDCMの心機能および生命予後を改善していることが示されました。

### 考察・今後の展望

これまでの研究で心筋梗塞後の虚血性心筋症におけるNKT細胞活性化の効果は、NKT細胞が分泌する抗炎症性サイトカインであるIL-10が担っていると考えられてきました。しかしながら、重篤な炎症を伴わないDCMにおいてはIFN $\gamma$ を介した血管新生促進と線維化の抑制が重要であり、NKT細胞の活性化がIL-10のみならず多彩な作用機序でDCMの病態改善に寄与していることが明らかとなりました。



【図：拡張型心筋症における $\alpha$ ガラクトシルセラミド樹状細胞療法の作用機序】

本研究でのDCMにおける $\alpha$ ガラクトシルセラミド樹状細胞療法の有効性と分子機序の解明により、臨床応用へ向けた研究開発が加速されることが期待されます。

### 論文

Ikeda M, Ide T, Matsushima S, Ikeda S, Okabe K, Ishikita A, Tadokoro T, Sada M, Abe K, Sato M, Hanada A, Arai S, Ohtani K, Nonami A, Mizuno S, Morimoto S, Motohashi S, Akashi K, Taniguchi M, Tsutsui H.

Immunomodulatory cell therapy using  $\alpha$  GalCer-pulsed dendritic cells ameliorates heart failure in a murine dilated cardiomyopathy model.

Circulation : Heart Failure 15 (12) : e009366 (2022)

### 謝辞

本研究を行うにあたり、ご支援頂きました公益財団法人難病医学研究財団、およびご寄付を頂きました多くの皆様に心より御礼申し上げます。