

## ミニ・レビュー —中村賞受賞者—

## 心不全の新たな治療標的としての自然炎症

末富 建

山口大学大学院医学系研究科器官病態内科学（内科学第二） 宇部市南小串1丁目1-1（〒755-8505）

Key words：心不全，心リモデリング，慢性炎症，自然免疫，心筋線維化

## 和文抄録

高齢化に伴い本邦の心不全患者は今後もしばらく増加するとみられている。かたやその治療法については大半が対症療法にとどまっており，心不全の病態に根本的にアプローチする治療が求められている。そのような中，最近の大規模臨床試験の結果から，心機能低下に自然炎症が関与しているという既知の事実が再び注目されている。自然炎症は損傷組織由来の成分（DAMPs）の認識により引き起こされるほか，細胞損傷がみられない段階においても，カルシウム調節因子の異常等に伴い心筋細胞内の炎症遺伝子およびNLRP3インフラマソームの活性化を経てもたらされ，その後の炎症性細胞の浸潤や心筋線維化，心機能低下につながることを示されている。自然炎症と慢性心不全の関係が明らかになることで，炎症シグナルの選択的制御が新たな治療標的として期待される。

## はじめに

本邦の心不全患者は高齢化に伴って急速に増加しており「心不全パンデミック」と称される。心不全に対しては，過去30年間で $\beta$ 遮断薬やRenin-angiotensin-aldosterone system（RAS）阻害薬など予後改善が得られる薬物療法や心臓再同期などの画期的なデバイス療法が発展しているが，それでも現在行われている治療の大半は対症療法であり，心

不全の発症機序に根本的にアプローチする治療が求められている。

心不全患者では，TNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカインの血中濃度が上昇しており，心不全の臨床的重症度ともよく相関することが1990年代から知られている。慢性炎症は神経体液性因子理論と並ぶる新たな心不全発症機序として世界的に注目され，多くの基礎的研究が行われたのち，2000年初頭にはTNF- $\alpha$ 等を標的とした臨床試験が行われるまでになったが，当時のいずれの試験も有効性を証明するに至らなかった<sup>1)</sup>。

その後，心臓の慢性炎症における自然免疫系の関与についての基礎的知見がさらに蓄積した。NOD-like receptor pyrin domain containing protein 3（NLRP3）インフラマソームシグナルはその一つであり，2017年，インフラマソームの最終産物の一つであるIL-1 $\beta$ に対する抗体canakinumabが心血管イベントの抑制に有効であるとする結果がCANTOS studyにおいて明らかにされたほか，同系統のシグナル伝達への介入による心不全への有効性も報告され，かつての「炎症」を標的とした心不全治療が再び脚光を浴びている<sup>2-4)</sup>。本稿では血行力学的負荷が自然免疫を介して慢性炎症を惹起する機序について概説する。

## 自然免疫による炎症

現在のところ生体の炎症反応は大きく2つの免疫機序，「獲得免疫系」と「自然免疫系」に分けて考えられている。獲得免疫系は「非自己抗原」を認識

するのに対して、自然免疫系は「感染の兆候」ならびに「組織損傷の兆候」を認識する。獲得免疫系は多彩な受容体レパートリーを用いて特定の病原体を認識し記憶するが、自然免疫系は、もともと体内に備わっている pattern recognition receptors (PRRs) で、感染ならびに組織損傷の兆候をパターン認識している。感染の兆候は外来微生物に共通の構成成分 (pathogen-associated molecular patterns : PAMPs) という形で、組織損傷の兆候はダメージを受けた細胞や細胞外基質から放出される成分 (damage-associated molecular patterns : DAMPs) という形で、各々の受容体によって察知される<sup>5)</sup>。DAMPsには high-mobility group box 1 (HMGB1), heat shock protein 60 (HSP60), アデノシン三リン酸 (ATP) やホルミルペプチド (fMLP) などがある。PRRsを介して Myd88やNF- $\kappa$ B等の細胞内シグナル伝達が活性化され、炎症性サイトカイン等の発現を介して炎症が起こる。

PRRsには大別して細胞膜やエンドソームに存在する toll-like receptors (TLRs) と、細胞内に存在する nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs) がある。

TLRsはヒト心臓に1~10のサブクラスが確認されており、そのうち主に発現しているのはTLR2とTLR4である。これらは心筋梗塞後や虚血再灌流後の心筋リモデリングに関与している<sup>6)</sup>。またTLR4は心移植待機患者などの心不全心筋において増加していることが報告されている<sup>7)</sup>。

NLRsはNLRP2とNLRP3が心臓に分布しており、特にNLRP3は心筋細胞内にあり細胞質内でDAMPsやPAMPsを感知する。NLRP3は apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-recruitment domain (ASC) やprocaspase-1と複合体を形成し、これがNLRP3インフラマソームと呼ばれる。NLRP3インフラマソームは活性化プロセスを経てCaspase-1として機能し、炎症シグナル伝達物質インターロイキン $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) やIL-18が産生される<sup>8)</sup>。このようにDAMPsのみでも炎症は誘導されるため、その場合は病原体が関与しないという意味でSterile inflammationとも称される。

## 免疫系細胞の活性化と心筋リモデリング

DAMPs, PRRsを介した炎症性シグナルにより様々なサイトカイン (TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$ , IL-18, IL-6など) やケモカイン (MCP-1など) が産生される。心筋組織に存在する心筋細胞, 血管内皮細胞, resident macrophage等が初期の産生源であるが、その後さらに免疫系細胞が心臓に集積し炎症が増幅される。マクロファージは心筋組織内に存在する resident macrophage (Ly6c<sup>low</sup>, CD11c<sup>low</sup>, CCR2<sup>-</sup>) と、ケモカインなど炎症シグナルに反応して組織内に集積するrecruited macrophage (Ly6c<sup>high</sup>, CCR2<sup>+</sup>) に大別される。Recruited macrophageが炎症シグナルをさらに増幅させる一方、resident macrophageはTGF- $\beta$ やIL-10など抗炎症のシグナルを発し筋線維芽細胞 (myofibroblast) を刺激するなど、組織修復、線維化促進に働く。両者の働きにより心筋リモデリングが進行する。

またTNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$ は心筋細胞肥大作用や線維芽細胞におけるアンジオテンシンII受容体増加作用がある。IL-6はtitinのリン酸化を介して心筋細胞のステイフネスを増大させ拡張機能低下に関与する。TNF- $\alpha$ やIL- $1\beta$ はSERCA等のCa調節分子をdown regulationする作用も持ち、心筋収縮力低下の一因と考えられている。

## 血行力学的過負荷による自然炎症

高血圧や弁膜症など、慢性的な血行力学的過負荷が生じる病態では、心筋細胞が肥大することで負荷に力学的に対応しつつも、微小レベルの慢性的な組織損傷が生じている<sup>9)</sup>。その結果、前述のように損傷した組織からDAMPsが持続的に放出され、これが自然免疫系を活性化して持続的な炎症が生じる。またDAMPsは細胞外に放出されるだけでなく、負荷への応答シグナルとして細胞内にも発生し、cell-autonomousに炎症を惹起する。圧負荷心においてはオートファジーが心筋細胞保護的に働いているが、オートファジー/リソソームにより分解しきれなかったミトコンドリアDNAがTLR9を介して心筋炎症を惹起していることはその一例である<sup>10)</sup>。

## 細胞内カルシウム恒常性調節因子が惹起する自然炎症

Cell-autonomousな炎症惹起機序としては他に、細胞内カルシウム調節因子も関与することが報告されている。心筋細胞は筋小胞体に貯蔵されたCa<sup>2+</sup>の細胞質内放出および再取り込みの厳密な管理により収縮・拡張が規定されているが、これを調節する因子の一つにカルシウム・カルモジュリン依存性キナーゼII (CaMKII)がある。CaMKIIはリアノジン受容体 (RyR) やホスホランパン (PLN) ほかイオンチャネルの機能異常を引き起こし、早期・遅延後脱分極 (EAD/DAD) の発生につながる催不整脈シグナル分子であるほか、心肥大関連遺伝子や炎症誘発遺伝子の転写因子、ミトコンドリアCa<sup>2+</sup>ユニポーターを活性化することにより、心肥大から心不全への非代償性変化にかかわる。筆者らは心筋細胞内のCaMKII  $\delta$  が血行力学的負荷に伴って活性化し、NF- $\kappa$ BとROSの増大を介してNLRP3インフラマソームが活性化され慢性炎症を誘導しうることを報告した<sup>11)</sup>。CaMKII  $\delta$  floxマウスとMyosin Light Chain (MLC) 2v-Creマウスの交配により心筋細胞特異的CaMKII  $\delta$  ノックアウトマウス (CKO) を作成し、CKOおよびコントロールマウス (fl/fl) の大動脈縮窄術 (TAC) への反応を比較したところ、有意な細胞死が認められない術後早期の時点でCaMKIIやNF $\kappa$ Bが活性化し、炎症遺伝子、NLRP3の発現増加、Caspase-1の活性化が確認された。またCaspase-1は術後早期には非心筋細胞では活性化しておらず、心筋細胞においてのみ活性化していた。その後遅れてマクロファージ (CD68+, F4/80+) の心筋組織集積、心筋線維化、心機能低下がTAC後には観察されるが、これらはCKOにおいていずれも有意に抑制ないし軽減されていた。すなわち圧負荷によって活性化したCaMKIIが、細胞死を伴わない早期の段階においても心筋細胞内の炎症遺伝子およびNLRP3インフラマソームの活性化を引き起こし、その後のマクロファージの浸潤や線維化、心機能低下をもたらすことが示唆された。

### 治療標的としての可能性

上記は一例であるが、このように損傷した組織からのDAMPsの放出や、血行力学的負荷に伴うNF-

$\kappa$ B, NLRP3インフラマソーム活性化が自然免疫系を介して持続的な慢性炎症を生じることが明らかにされてきている。この反応は組織修復や恒常性維持においても重要であるが、組織の微小な破壊と修復が絶えず行われることで、最終的に心機能低下に至るものと考えられる。

これら自然免疫由来の慢性炎症に対して、治療標的として有望な結果がいくつか報告されている。基礎実験では前述のミトコンドリアDNA-TLR9による自然炎症シグナルに対して、TLR9受容体阻害剤である化合物E6446 (6- [3- (pyrrolidine-1-yl) propoxy] - 2 - (4- (3- (pyrrolidin-1-yl) propoxy) phenyl] benzo [d] oxazole) の投与により、圧負荷誘発性心不全の発症予防のみでなく進行した心筋リモデリングの改善効果が確認されている<sup>12)</sup>。また臨床においても、高価な抗体であるcanakinumabでの効果を示したCANTOS studyだけでなく、廉価かつ強力な抗炎症作用をもち、NLRP3インフラマソーム抑制作用があるcolchicineを上乗せした大規模臨床試験 (COLCOT) においても炎症が抑制され心血管イベントの再発抑制効果が示されている<sup>13)</sup>。

炎症それ自体は生体の防御・修復過程でもあり、単に完全に炎症を抑制することでは治療に結びつかず逆に有害となりうることは過去の臨床研究の結果からも示唆されている。過剰な破壊を制御する、過剰な修復 (線維化) を制御する、バランスを司る因子を修飾するなど、予後改善に繋がる選択的炎症治療が模索されているが、インフラマソームシグナルの解明がその手掛かりとなることに期待したい。

### 謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導を頂いた矢野雅文先生 (山口大学大学院医学系研究科器官病態内科学教授) をはじめ器官病態内科学の皆様、そして研究留学中にお世話になったDr. Joan Heller Brown (University of California San Diego) とBrown Labのメンバーに感謝いたします。本研究は上原記念生命科学財団海外留学助成リサーチフェローシップ、米国心臓財団 (American Heart Association) ポストドクトラルフェローシップ (17POST33680017)、医療法人社団成蹊会岡田病院、公益財団法人先進医薬研究振興財団、日本循環器学会、宇部興産学術振

興財団の支援を受けています。

### 引用文献

- 1) Riehle C, Bauersachs J. Key inflammatory mechanisms underlying heart failure. *Herz* 2019 ; 44 (2) : 96-106.
- 2) Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. 2017 ; 377 (12) : 1119-1131.
- 3) Everett BM, Cornel JH, Lainscak M, et al. Anti-Inflammatory Therapy with Canakinumab for the Prevention of Hospitalization for Heart Failure. *Circulation* 2019 ; 139 (10) : 1289-1299.
- 4) Van Tassell BW, Canada J, Carbone S, et al. Interleukin-1 Blockade in Recently Decompensated Systolic Heart Failure : Results from REDHART ( Recently Decompensated Heart Failure Anakinra Response Trial). *Circ Heart Fail* 2017 ; 10 (11) : e004373.
- 5) Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010 ; 140 (6) : 805-820.
- 6) Mann DL, et al. Innate immunity in the adult mammalian heart : for whom the cell tolls. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2010 ; 121 : 34-50.
- 7) Birks EJ, et al. Increased toll-like receptor 4 in the myocardium of patients requiring left ventricular assist devices. *J Heart Lung Transplan* 2004 ; 23 (2) : 228-235.
- 8) Toldo S, Abbate A. The NLRP3 inflammasome in acute myocardial infarction. *Nat Rev Cardiol* 2018 ; 15 (4) : 203-214.
- 9) Eirin A, et al. Mitochondrial targeted peptides attenuate residual myocardial damage after reversal of experimental renovascular hypertension. *J Hypertens* 2014 ; 32 (1) : 154-65.
- 10) Oka T, et al. Mitochondrial DNA that escapes from autophagy causes inflammation and heart failure. *Nature* 2012 ; 485 (7397) : 251-255.
- 11) Suetomi T, Willeford A, Brand CS, et al. Inflammation and NLRP3 Inflammasome Activation Initiated in Response to Pressure Overload by Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II  $\delta$  Signaling in Cardiomyocytes Are Essential for Adverse Cardiac Remodeling. *Circulation* 2018 ; 138 (22) : 2530-2544.
- 12) Ueda H, Yamaguchi O, Taneike M, et al. Administration of a TLR9 Inhibitor Attenuates the Development and Progression of Heart Failure in Mice. *JACC Basic Transl Sci* 2019 ; 4 (3) : 348-363.
- 13) Tardif JC, Kouz S, Waters DD, et al. Efficacy and Safety of Low-Dose Colchicine after Myocardial Infarction. *N Engl J Med* 2019 ; 381 : 2497-2505.

### Sterile Inflammation as a Novel Therapeutic Target to Heart Failure

Takeshi SUETOMI

Division of Cardiology, Department of Medicine and Clinical Science (Internal Medicine II), Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

### SUMMARY

There is substantial evidence that chronic heart failure is associated with inflammation. Ischemic stress such as myocardial infarction lead to necrotic cell death and release of damage associated molecular patterns (DAMPs), factors that signal cell damage and induce expression of proinflammatory chemokines and cytokines. It has recently become evident that nonischemic

interventions are also associated with increases in inflammatory genes and immune cell accumulation in the heart and that these contribute to fibrosis and ventricular dysfunction. In this review we provide recent evidence of adverse cardiac remodeling induced by sterile inflammation in response to nonischemic stress. We also introduce the role of the multifunctional  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase, CaMKII, as a transducer of stress signals to nuclear factor- $\kappa$ B activation, expression of proinflammatory cytokines and chemokines, and priming and activation of the NOD-like pyrin domain-containing protein 3

(NLRP3) inflammasome in cardiomyocytes. The potential efficacy of anti-inflammatory therapy was shown by the results of the recently published clinical trials in which a significant decrease in adverse cardiac events was observed in patients treated by inhibitions of mediators generated through the NLRP3 inflammasome, suggesting that the inflammasome plays a central role in both initiating and sustaining cardiac sterile inflammation. Achieving a further understanding of these mechanisms has implications for the development of therapeutic regimens to limit cardiac remodeling.

