

背景と目的

老化に伴い生じる慢性的な炎症が、様々な加齢関連疾患の発症や進展に影響を与えることが明らかになってきている。心臓における慢性炎症は、心臓の肥大や線維化を誘発し、心不全の原因となることが示唆されている。実際に我々は、老齢のマウスにおいて心機能の低下と心肥大が発生することを見出している(図1)。実臨床においても、心不全患者の多くを高齢者が占めていることが知られる。高齢化の進展の著しい我が国において心不全患者は急増しており、新たな治療戦略の確立が待ち望まれている。近年、心臓にはマクロファージと呼ばれる免疫細胞の集団が常在しており、心臓環境の恒常性の維持に重要な役割を担っていることが明らかとなってきた。老化に伴い心臓マクロファージの機能が変調することが慢性炎症の促進に寄与していると考えられ、その原因としてエピゲノム等の内因性変化が生じている可能性があるが、その詳細な分子機構は未だ十分に解明されていない。本研究によって、我々は老化による心臓マクロファージの遺伝子発現変化とそれを司るエピジェネティックな制御機構を明らかにすることを試みた。

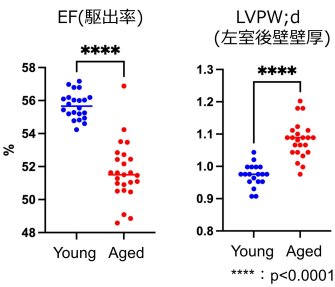
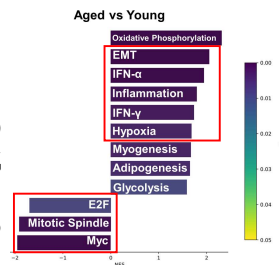


図1: 老齢マウスでは心機能低下と心肥大が観察される

方法と結果

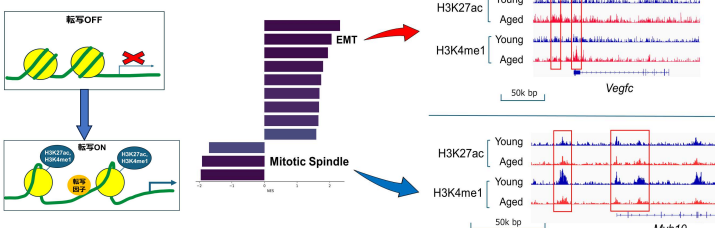
老化による遺伝子発現変化

老齢マウスの心臓からフローサイトメーターを用いて常在マクロファージを分取し、bulk RNA-seqを実施した。カウントデータを元にDEGのPathway解析を実施した結果、老化に伴い炎症や線維化、細胞増殖に関わる複数のpathwayが変動していることが観察された。

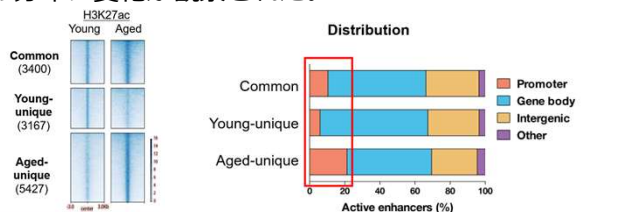


老化変動遺伝子におけるエピゲノム変化

こうした遺伝子発現の制御機構としてエピゲノムの変化に着目し、CUT & RUN-seqにより遺伝子転写の活性化を示すヒストン修飾 (H3K27ac, H3K4me1) の変化を評価した。その結果、老化により変動したpathwayに含まれている遺伝子の近傍においてこうした修飾が変動していた。

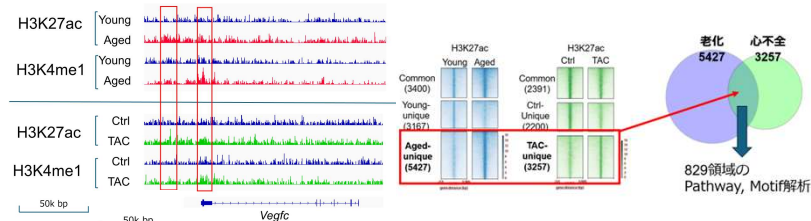


さらに、ヒストン修飾のピークコーリングを行いエピゲノム変化領域の近傍遺伝子座を探索したところ、老化に伴い修飾の分布に変化が観察された。



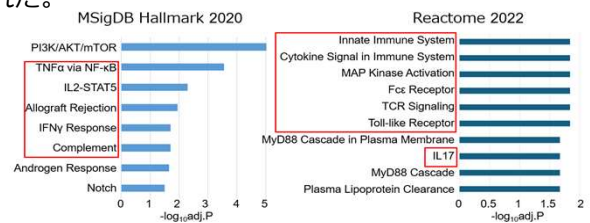
老齢・心不全マウスにおけるエピゲノム変化の比較

横行大動脈縮窄術(TAC)により心不全を誘発したマウスからも心臓マクロファージを分取し、ヒストン修飾の変化を評価した。その結果、老齢マウスと共通する領域における修飾の変動が見出された。そこで、共通変動領域の近傍遺伝子座を抽出し、更なる解析を実施した。

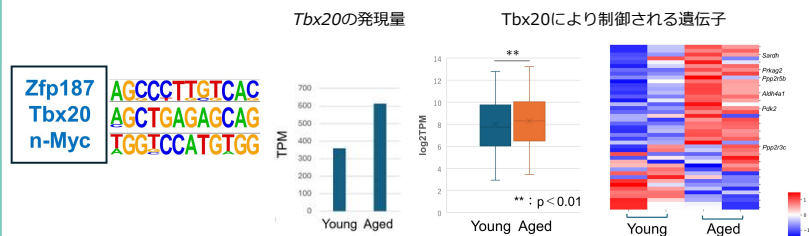


エピゲノム共通変化領域の近傍遺伝子の解析

Pathway解析の結果、老化に伴い炎症関連のpathwayの上昇が見られた。



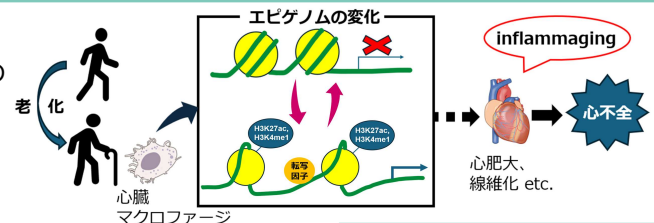
de novo motif解析により見出された転写因子Tbx20によって制御される遺伝子の発現は、bulk RNA-seqの結果において有意に上昇していることがわかった。



総括

- ★心臓マクロファージにおける老化変動遺伝子の転写活性化マーカーの心不全でも類似した修飾変化がみられた。
- ★老齢・心不全のマウス心臓マクロファージで共通する転写活性化領域の近傍に結合する転写因子を見出した。

老化に伴い、特定の領域のヒストン修飾が変化して遺伝子発現が変動することが、慢性的な炎症 (inflammaging) を介した心不全の発症・進展に寄与している可能性を明らかにした。



謝辞

東京都医学総合研究所 中山 幸輝先生に厚くお礼申し上げます。
本研究は、JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム JPMJSP2109 および 革新医療創生CHIBA卓越大学院の支援を受けたものです。