

令和 2 年 7 月 16 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10770

研究課題名(和文) 免疫制御分子Sykを標的とした大動脈解離の病態解明と増悪阻止療法の開発

研究課題名(英文) The role of Syk in pathogenesis of aortic dissection

研究代表者

古荘 文 (FURUSHO, AYA)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：80597427

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、大動脈解離におけるB細胞および免疫制御分子Sykの役割を解明することを目的とした。マウス解離組織ではB細胞の集簇とSyk活性化を認めた。Syk阻害薬は解離を増悪させたことからSykは組織保護することが示された。先天性B細胞欠損マウス(μMT)では野生型より解離が軽症だったがIgG投与により解離が増悪した。正常大動脈では認めないIgG集積が解離発症前に限局的にみられ、その場所に一致してフィブリノゲンが沈着していた。μMTでは投与した外因性IgGは大動脈壁に集積していた。以上より申請者らは、解離病態ではSykが組織保護的に作用し、IgGが組織破壊を統合的に制御する可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、大動脈解離におけるB細胞および免疫制御分子Sykの役割を解明することを目的とした。解離病態ではSykが組織保護的に作用し、IgGが組織破壊を統合的に制御する可能性を見出した。IgGの作用は多面性があるが、主に炎症促進と炎症抑制に大別される。今後、IgGの作用を個別に検討することで、解離病態における組織破壊と組織保護のインバランスを制御するメカニズムが明らかになると期待される。近年、IgGの抑制型Fc受容体の作用を増強し免疫抑制シグナルを導入する創薬が開発されつつあり、本研究の成果から解離病態の組織破壊に対する抑制療法の開発が可能になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We examined the role of Syk in pathogenesis of aortic dissection (AD) using human AD tissue and mouse model of AD. Immunohistochemical staining of human AD tissue revealed that B cells were enriched at the entry site of AD. B cell infiltration and Syk activation were observed in mouse model of AD. Unexpectedly, administration of Syk inhibitor worsened AD, indicating the protective role of Syk. In B cell-deficient μMT mouse, BAPN+AngII induced significantly less severe AD compared to wild type. Depositions of IgG and fibrinogen, one of the endogenous antigen for natural IgG, were observed after BAPN+AngII infusion before and after AD development in wild type mice. Deposition of fibrinogen was also observed in μMT mice after BAPN+AngII infusion. Infusion of IgG to μMT worsened AD. Therefore, Syk is protective against AD, while B cells and IgG promote AD. Our findings may provide the conceptual foundation of the diagnostic and therapeutic strategies for AD.

研究分野：分子循環器学

キーワード：大動脈解離 免疫グロブリン Syk

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

【臨床的背景】

大動脈解離は激しい痛みとともに大動脈壁の内側から中膜が破断し壁破壊が進行する致命的な疾患である。本邦では年間数万人が発症し、50代以降の男性に多く社会的影響も大きい。解離が上行大動脈に及ぶ Stanford A 型では外科的治療が行われるが多くの場合は遠位部に解離を残す。解離が上行大動脈に及ばない B 型では安静、降圧療法が基本である。例え救命し得ても解離大動脈は脆弱であり、発症 5 年以内に半数が壁破壊の増悪による瘤化、破裂、再解離、末梢虚血など様々な大動脈合併を起こす。慢性期における壁破壊増悪の対策は重要な臨床課題であるが、その病態は不明で病態評価の指標や増悪阻止療法は存在しない。

【学術的背景】

近年、申請者ら (Kimura, Furusho, Aoki 他 SciRep 2014. Son, Aoki, Suzuki 他 Nature Commun 2015 等) や他のグループ (Tieu, J Clin Invest 2009. Kurihara, Circulation 2012. Anzai, Circ Res 2015 等) の研究により解離発症機構が解明されつつある。これに対して発症後の壁破壊増悪機構は全く不明である。

申請者は大動脈瘤において B 細胞が免疫グロブリンと Syk を介して壁破壊を増悪させることを発見した (2013 - 2014 年度、2015 - 2016 年度若手研究 (B). Furusho, J Am Heart Assoc. 2018)。Syk は炎症細胞特異的に発現する Src ファミ

リーチロシンキナーゼであり、B 細胞の活性化に必須であると同時に、免疫グロブリンが Fc 受容体を介して炎症細胞を活性化する際にも必須である。しかも Syk 阻害薬は、慢性関節リウマチなど B 細胞過剰活性が関与する疾患の治療薬として開発が進められており、解離増悪阻止効果が証明されれば臨床応用も視野に入る。申請者は B 細胞活性化と炎症細胞活性化の両方に関わる Syk の機能を解明することで解離病態の理解が飛躍的に進み、解離病態の評価や壁破壊の増悪阻止が可能になると着想した (図 1)。

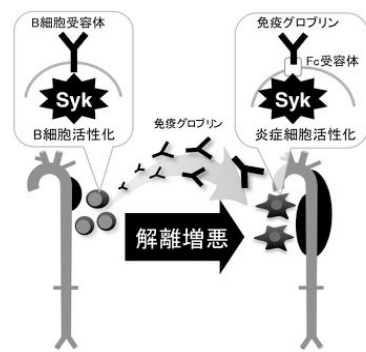


図1. 本研究の病態仮説

解離部位に集簇した B 細胞は活性化し、炎症促進により壁破壊を増悪させる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、大動脈解離における免疫制御分子 Syk の役割を解明し、解離増悪の病態評価と制御療法を実現することである。

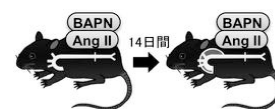
3. 研究の方法

(1) マウス大動脈解離モデル

コラーゲン架橋酵素阻害薬 BAPN とアンジオテンシン II の持続投与により 2 週間で解離が発症し壁破壊が増悪するマウスモデルを開発した (図 2)。野生型、先天性 B 細胞欠損マウス (μ MT) でこのモデルを用いて、大動脈解離における Syk の役割を検証した。

(2) ヒト大動脈解離

手術で Stanford A 型大動脈解離組織を採集し、患者の承諾を画面上で得た上で解離組織における Syk 活性を組織染色および組織培養を用いて解析する。



正常 3日目 7日目 14日目

図2 マウス大動脈解離モデル

4. 研究成果

【大動脈解離と Syk】

ヒトおよびマウス解離組織において、B 細胞は中膜断裂部に集簇するという特徴的な分布をしていた (図 3)。マウス解離組織ではマクロファージを主体とする炎症細胞および平滑筋細胞で Syk が活性化を認め、IgG の沈着、MMP-9 の発現を認めた (図 4)。Syk 阻害薬 fostamatinib を投与すると、非投与群と比較して病変長と生存率ともに増悪した (図 5)。したがって、予想に反して解離病態では Syk が組織保護機能を担うことが示された。

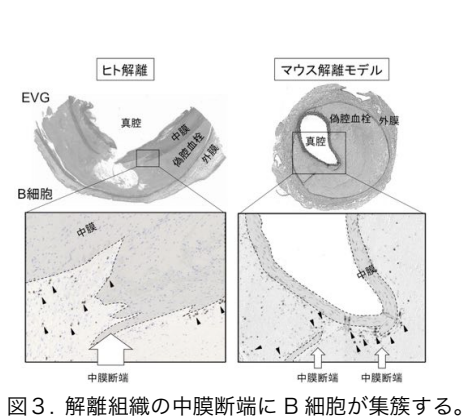


図 3. 解離組織の中膜断端に B 細胞が集簇する。

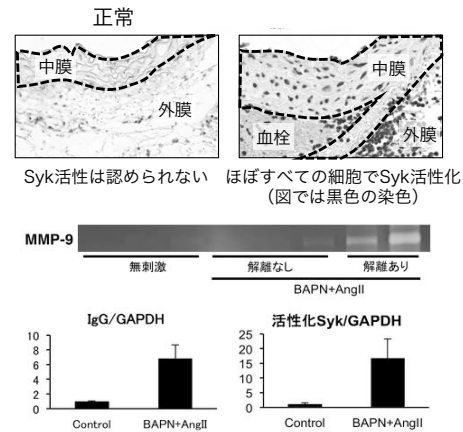


図 4 マウス解離組織では MMP-9 発現、IgG 沈着、Syk 活性化を認める。

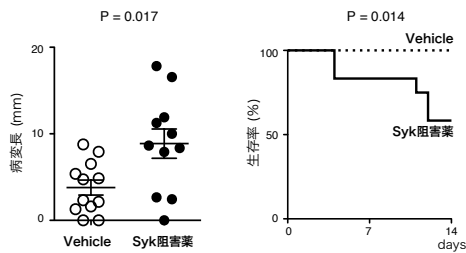


図 5 Syk 阻害薬による解離増悪
マウスに Syk 阻害薬 fostamatinib を投与すると病変長 (左)、生存率 (右) ともに増悪した。

【大動脈解離と免疫グロブリン】

μ MT マウスでは野生型と比較して解離発症率に差はないが、重症度 (病変長) がはるかに軽度であった (図 6)。 μ MT マウスに IgG を投与すると、非投与群と比較して大動脈破裂による死亡率が劇的に増加した (図 7)。解離増悪には Syk 以外に B 細胞の下で働く組織破壊の制御メカニズムがあるはずで、申請者の癌研究の知見よりそれは免疫グロブリン (IgG) ではないかと考えた。正常大動脈には IgG の集積は認められなかったが、解離刺激を加えたマウス大動脈では解離発症前に IgG の限局的な集積を認めた。さらに IgG 集積場所に一致して自然 IgG の抗原として知られるフィブリノゲンの集積を認めた。野生型と同様に μ MT マウスでも、解離刺激後の大動脈壁にはフィブリノゲンが沈着していた (図 8)。さらに、 μ MT マウスでは投与した外因性 IgG は大動脈壁に集積していた。この知見は B 細胞および IgG が解離慢性期の破壊進行を引き起こすこと、さらに急性期に自然 IgG が大動脈破壊、突然死を引き起こすことを強く示唆する。

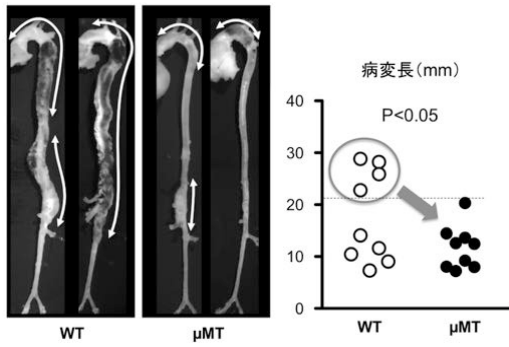


図6. B細胞欠損マウス (μMT) では解離増悪が阻止される

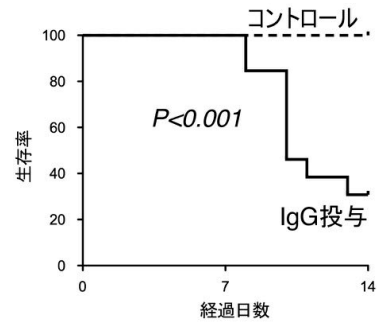


図7. B細胞欠損マウス (μMT) に自然 IgG を投与すると大動脈破裂・突然死が起こる。

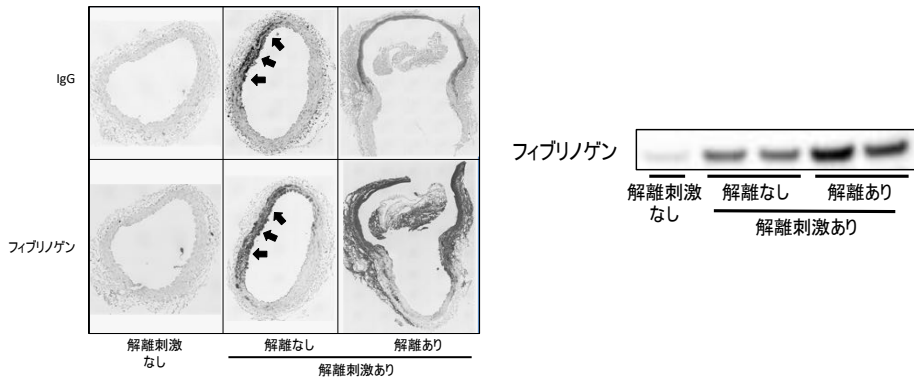


図8. 解離発症前のマウス大動脈に IgG とフィブリノゲン集積 (矢印) を認めた。

【まとめ】

以上の知見より申請者らは、解離病態では Syk が組織保護的に作用し、逆に IgG が解離急性期から慢性期に至るまで組織破壊を統合的に制御する可能性を見出した。今後、申請者らは IgG の機能を媒介するエフェクター分子 (炎症抑制型 $Fc\gamma$ 受容体、炎症活性化型 $Fc\gamma$ 受容体、補体系) の機能解明を通じて解離病態における IgG の役割を明らかにし、解離病態の全貌解明を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Furusuo A, Aoki H, Ohno-Urabe S, Nishihara M, Hirakata S, Nishida N, Ito S, Hayashi M, Imaizumi T, Hiromatsu S, Akashi H, Tanaka H, Fukumoto Y	4. 巻 7
2. 論文標題 Involvement of B Cells, Immunoglobulins, and Syk in the Pathogenesis of Abdominal Aortic Aneurysm.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Am Heart Assoc	6. 最初と最後の頁 e007750
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/JAHA.117.007750	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Michihide Nishihara, Hiroki Aoki, Satoko Ohno, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Makiko Hayashi, Tsutomu Imaizumi, Yoshihiro Fukumoto	4. 巻 12
2. 論文標題 The role of IL-6 in pathogenesis of abdominal aortic aneurysm in mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0185923
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0185923	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Satoko Ohno-Urabe, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Makiko Hayashi, Hideo Yasukawa, Tsutomu Imaizumi, Hidetoshi Akashi, Hiroyuki Tanaka, Yoshihiro Fukumoto	4. 巻 7
2. 論文標題 Role of Macrophage Socs3 in the Pathogenesis of Aortic Dissection.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e007389
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/JAHA.117.007389	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Aya Furusho, Hiroki Aoki, Satoko Ohno-Urabe, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Makiko Hayashi, Tsutomu Imaizumi, Shinichi Hiromatsu, Hidetoshi Akashi, Hiroyuki Tanaka, Yoshihiro Fukumoto	4. 巻 7
2. 論文標題 Involvement of B Cells, Immunoglobulins, and Syk in the Pathogenesis of Abdominal Aortic Aneurysm.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e007750
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/JAHA.117.007750	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Furusho A, Aoki H, Nishihara M, Ohno-Urabe S, Hirakata S, Nishida N, Ito S, Hayashi Y, Ito S, Hashimoto Y, Majima R, Fukumoto Y
2. 発表標題 Involvement of B cell/Syk Axis in Development of Abdominal Aortic Aneurysm
3. 学会等名 第82回日本循環器学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 A. Furusho, H. Aoki, S. Ohno, M. Nishihara, S Hirakarta, N. Nishida, S.Ito, M. Hayashi, H. Akashi, H. Tanaka, Y. Fukumoto
2. 発表標題 B Cells Promote the Progression of Aortic Dissection through a Proinflammatory Response
3. 学会等名 The 81st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 A. Furusho, H. Aoki, S. Ohno, M. Nishihara, S Hirakarta, N. Nishida, S.Ito, M. Hayashi, H. Akashi, H. Tanaka, Y. Fukumoto
2. 発表標題 Involvement of B cell/Syk axis in development of abdominal aortic aneurysm.
3. 学会等名 European Society of Cardiology Congress 2017（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 A. Furusho, H. Aoki, M. Nishihara, S. Ohno, S. Hirakata, N. Nishida, S.Ito, M. Hayashi, Y. Hashimoto, R. Majima, Y. Fukumoto
2. 発表標題 Involvement of Bcell/Syk Axis in Development of Abdominal Aortic Aneurysm
3. 学会等名 The 82nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	青木 浩樹 (AOKI HIROKI) (60322244)	久留米大学・付置研究所・教授 (37104)	
研究分担者	田中 啓之 (TANAKA HIROYUKI) (70197466)	久留米大学・医学部・教授 (37104)	削除:2019年12月9日