

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：15501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19583

研究課題名（和文）血管疾患特有の力学刺激-免疫連関に着目した抗炎症・修復促進療法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel therapy targeting the interaction between mechanical stress and immune-inflammatory responses

研究代表者

吉村 耕一（YOSHIMURA, Koichi）

山口大学・大学院医学系研究科・准教授（特命）

研究者番号：00322248

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：大動脈瘤・大動脈解離は破裂により突然死を来す疾患である。治療法は外科的治療に限られているため、病態解明に基づく新規治療法の開発が待ち望まれている。本研究において、過度な力学的刺激がマクロファージの免疫・炎症応答を増長することを発見した。シグナル分子c-Jun N-terminal kinase（JNK）のアイソフォームの抑制によって、力学的刺激により増長されるマクロファージの免疫・炎症応答が阻止され、さらに力学的刺激下で誘発されるモデル動物の病変の進行が軽減された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究における発見から、大動脈瘤・大動脈解離の病変部特有の力学刺激と免疫・炎症応答系との連関が制御可能であることと、その制御が新規治療法に繋がる可能性があることが示された。病変部特有の力学刺激と免疫・炎症応答系との連関を標的とすれば、全身の免疫系には影響しない、副作用の少ない治療法が期待できる。広く慢性炎症性疾患に対する新たな作用機序の抗炎症薬の提供にも繋がる。

研究成果の概要（英文）：Aortic aneurysm and aortic dissection are life-threatening diseases due to aortic rupture. Since therapeutic options are limited, development of novel pharmacotherapy has been needed. In this study, we found that inordinate level of mechanical stress on macrophages accelerated immune-inflammatory responses. Further, isoform-specific inhibition of c-Jun N-terminal kinase (JNK) reduced inflammatory responses in macrophages and also slowed disease progression, under mechanical stress conditions.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：大動脈瘤 大動脈解離 力学刺激

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 大動脈瘤・大動脈解離は破裂による突然死を来し、高齢者死因の上位を占める臨床上重要な疾患である。大動脈瘤・大動脈解離における血管組織破壊は、免疫系細胞とメディエーターが仲介する持続的炎症によって進行するが、従来の免疫抑制療法では十分な有効性・安全性が認められていない(引用文献)。

(2) 高血圧が大動脈瘤・解離発症の最大のリスク因子であり、ステントグラフトによる力学刺激遮断が治療として有効なことから、大動脈壁への力学刺激応答が疾患の発症や進行の鍵である可能性は高い。研究代表者は、大動脈及び血管壁細胞への過度な力学刺激がシグナル分子 c-Jun N-terminal kinase (JNK) 系を介して炎症シグナルに変換されること(引用文献) さらには JNK 系活性化が細胞外基質合成酵素と基質分解酵素の均衡を調節して組織破壊病態を促進することを見出した(引用文献)。これらは、JNK 系を介した力学刺激応答が瘤・解離病態において重要であることを示唆する知見である。さらに研究代表者は、マクロファージにおける Focal adhesion kinase (FAK) / JNK 系活性化が炎症を遷延化させて大動脈瘤病変を進行させる鍵であることを発見した(引用文献)。

(3) 生体防御のための免疫系には、過剰な炎症にならずに適切に修復に向かうよう、活性化機構とともに抑制機構が備わっている。マクロファージが炎症促進型から組織治癒型、さらには炎症収束型へと形質転換する機序はその代表と考えられている(引用文献)。しかし、組織破壊性病変の瘤・解離や肥厚性病変の動脈硬化症では、免疫応答によって引き起こされた炎症が収束せず慢性化している。そのため免疫系を抑制する治療戦略が期待されるが、免疫抑制には副作用のリスクが伴う。免疫抑制による副作用を回避しつつ、有効な抗炎症効果を得ることが理想であるが、それは未だ達成されていない大きな挑戦である。研究代表者は、有効かつ安全な免疫抑制療法実現への活路を見出すために、力学刺激と免疫系の連関に着目した。過度な周期的伸展刺激は大動脈瘤・解離の病変部特有な刺激であるため、この力学刺激が免疫系を活性化し炎症病態を促進する連関機序が明らかになれば、その連関を標的とする治療によって、全身の免疫系には影響しない血管病変部特異的な抗炎症効果を期待することができる。

2. 研究の目的

(1) 本研究は、組織破壊性血管病変である大動脈瘤・大動脈解離の病態進行を病変特異的に制御する免疫応答機構を解明し、それに基づく新発想の治療法開発に挑戦することを目的とする。

(2) 研究代表者は、血管組織の恒常性維持における力学刺激応答の重要性に着目し、血管病変部特有の過度な伸展刺激がマクロファージの炎症促進型から組織治癒型への形質転換を障害して、炎症を持続・遷延化するという新たな病態仮説を構想した。本研究は、この仮説を検証することを目的としたものであり、安全な抗炎症と積極的な修復治癒促進を特徴とする革新的治療法の実現に繋がる可能性が高い。

3. 研究の方法

(1) ヒト病変組織におけるマクロファージと JNK シグナル系を解析するために、手術症例から大動脈瘤・解離の病変組織を入手し、マクロファージ浸潤程度並びに JNK 活性及び細胞外基質分解系分子 MMP-9 等をウエスタンブロット法と免疫組織染色等により解析した。

(2) マクロファージへの過度な力学刺激が炎症系・基質分解系分子の発現を亢進することを明らかにするために、野生型雄マウス腹腔由来のマクロファージを採取し、炎症促進型マクロファージに誘導するために Lipopolysaccharide (LPS) を添加した。JNK 活性化をリン酸化型 JNK 蛋白発現として、さらに炎症分子の Nitric Oxide Synthase 2 (NOS2) 蛋白発現をウエスタンブロットで定量解析した。内部標準として Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を用いた。さらに、JNK のアイソフォームである JNK1 または JNK2 を特異的に抑制するために、JNK1 または JNK2 遺伝子欠損マウス由来の培養マクロファージを用いて実験を行った。

(3) 血圧上昇に伴う大動脈壁への力学刺激応答が炎症系・基質分解系分子の発現を亢進することを生体内で明らかにするために、野生型雄マウスにアンジオテンシンを持続投与することで誘発される瘤・解離モデルを作成した(引用文献)。さらに、JNK のアイソフォームである JNK1 または JNK2 を特異的に抑制するために、JNK1 または JNK2 遺伝子欠損マウスを用いてアンジオテンシン 持続投与による瘤・解離モデルを作成して実験を行った。

4. 研究成果

(1) 手術症例から得られたヒト瘤・解離の病変組織を解析した結果、対照の大動脈組織に比べて、JNK2 活性化とマクロファージ集積、さらに MMP-9 蛋白発現が亢進していることが確認された。

(2) マウス腹腔由来の培養マクロファージは、LPS 刺激後に NOS2 等の炎症系蛋白の発現を亢進

させ炎症促進型を呈した。適度な周期的進展刺激は、LPS 刺激後の NOS2 蛋白発現亢進を軽減する傾向が認められた。一方で、過度な周期的進展刺激は、LPS 刺激後の NOS2 蛋白発現亢進を顕著に増長した。さらに、培養マクロファージ実験系において、JNK2 の発現抑制により実験的に JNK1 優位にすると、過剰な力学刺激下でも LPS 刺激後の NOS2 蛋白発現が抑制された。

(3) アンジオテンシン持続投与で誘発される瘤・解離モデルマウスにおいて、血圧上昇による力学刺激への暴露により、病変部に JNK 活性化を伴ったマクロファージの集積することが確認された。さらに、JNK2 の発現抑制により実験的に JNK1 優位としたモデルマウスでは、瘤・解離の病変進行が軽減され、組織の修復傾向が観察された。

(4) 本研究の結果から、JNK2 発現減少の JNK1 優位なマクロファージは、過度な力学刺激環境下でも炎症抑制型（組織治癒型）の特徴を示し、マウスの瘤・解離モデルにおいては病変の進行防止に働くことが示唆された。

< 引用文献 >

Yoshimura K, Morikage N, Nishino-Fujimoto S, Furutani A, Shirasawa B, Hamano K. Current Status and Perspectives on Pharmacologic Therapy for Abdominal Aortic Aneurysm. *Curr Drug Targets* 19(11): 1265-1275, 2018.

Yamashita O, Yoshimura K, Nagasawa A, Ueda K, Morikage N, Ikeda Y, Hamano K. Periostin Links Mechanical Strain to Inflammation in Abdominal Aortic Aneurysm. *PLoS ONE*. 8(11): e79753, 2013.

Yoshimura K, Aoki H, Ikeda Y, Fujii K, Akiyama N, Furutani A, Hoshii Y, Tanaka N, Ricci R, Ishihara T, Esato K, Hamano K, Matsuzaki M. Regression of abdominal aortic aneurysm by inhibition of c-Jun N-terminal kinase. *Nature Medicine* 11: 1330-1338, 2005.

Harada T, Yoshimura K, Yamashita O, Ueda K, Morikage N, Sawada Y, Hamano K. Focal Adhesion Kinase Promotes the Progression of Aortic Aneurysm by Modulating Macrophage Behavior. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 37(1): 156-165, 2017.

Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity* 44(3): 450-462, 2016.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sakalihasan N, Michel JB, Katsargyris A, Kuivaniemi H, Defraigne JO, Nchimi A, Powell JT, Yoshimura K, Hultgren R	4. 巻 4
2. 論文標題 Abdominal aortic aneurysms	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nat Rev Dis Primers	6. 最初と最後の頁 1-22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41572-018-0030-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yoshimura K
2. 発表標題 A Mechanistic Link between Mechanical Stress and Inflammation in the Progression of Aortic Diseases
3. 学会等名 6th IMAD（招待講演）（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