

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：35302

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12131

研究課題名（和文）コンピュータモデルによる動脈硬化発症メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of arteriosclerosis's onset by using computer model

研究代表者

山田 訓（Yamada, Satoshi）

岡山理科大学・情報理工学部・教授

研究者番号：20393506

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：動脈硬化には血管内皮細胞の炎症アンブが重要であると考え、内皮細胞内の炎症アンブのモデルと血管内皮下でのマクロファージの集積とその泡沫化のモデルを構築し、動脈硬化発症の初期を計算するモデルを確立した。LDL/HDL濃度依存性をシミュレーションし、高LDL低HDLで泡沫細胞の蓄積が起こることを再現し、実験結果と定性的に一致した。感受性分析とパラメータ値を変更させたモデルのシミュレーションにより、NFkBの核への移行、NFkBとSTAT3の結合、SOCSの産生量、VCAMによる単球の誘因に関する反応が重要であることが分かり、動脈硬化発症に関係していると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動脈硬化発症モデルとなりうるコンピュータモデルを構築できたので、このモデルを用いて動脈硬化発症メカニズムの解析が可能になり、生物が実験を減らすことができる。また、新規薬物や新規治療法の候補をモデルを使って提案することが可能になる。動脈硬化は心疾患や脳血管障害の原因であるので、動脈硬化の発症メカニズムを解析できるモデルの意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：The computer model which contains the inflammation amplifier model in the endothelial cells and cellular interactions in the subendothelial space was developed in order to simulate the onset of the atherosclerosis. The model mimicked the foam cell accumulation in the subendothelial space, the LDL-HDL dependency, and the difference between F759 mutant and the wild-type. Based on the sensitivity analysis and the analysis on models with modified parameters, it is considered that the NFkB movement to the nucleus, the binding of NFkB and STAT3, SOCS production, the infiltration of monocyte by VCAM are important for the onset of the atherosclerosis.

研究分野：バイオインフォマティクス

キーワード：動脈硬化 炎症アンブ シミュレーション IL-6 NFkB

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

炎症(inflammation)は外敵を排除する重要な免疫反応で、通常は外敵を排除すると元の状態に戻る。しかし、外敵ではなく、内的要因による場合などでは、炎症を誘起した原因がなくならず、炎症が持続する場合がある。これが慢性炎症で、様々な疾患の原因になっていると考えられている。慢性炎症が原因の疾患には、糖尿病、がん、リウマチ、アルツハイマー病や動脈硬化がある。現在の主要な死因である脳血管障害、心血管疾患、がんのいずれも慢性炎症に関係する疾患であるので、慢性炎症の発症メカニズムや慢性炎症から疾患発症につながるメカニズムを解明することは、これらの疾患の予防法や治療法を開発するために重要である。動脈硬化は脳血管障害と心血管疾患に関係しており、動脈硬化を予防したり、動脈硬化の進展を抑制することができれば、主要な死因である脳血管障害や心血管疾患を減少させることが可能になるので、健康増進への多大な貢献が期待できる。

慢性炎症によって起こる疾患の一つであるリウマチでは、関節内で慢性炎症が持続し、破骨細胞が分化して関節の破壊が起こる。リウマチにおいて、村上らは非免疫細胞である滑膜細胞で慢性炎症を維持する反応系があることを発見した。炎症アンプと呼ばれる NFκB と STAT3 を同時に活性化するシグナル伝達系(図1)で、それぞれを活性化するサイトカイン(エペレグリンや IL-6)を産生し、フィードフォワードループを構成して、活性化を維持する反応系である。NFκB の過剰な活性化が持続することにより、滑膜細胞がエペレグリンを過剰に産生する。エペレグリンにより、破骨細胞の分化が誘導され、リウマチの病態である関節破壊が進行する。

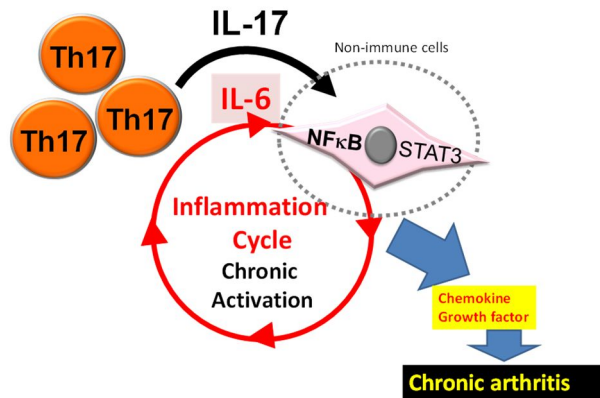


図1 炎症アンプの概念図

リウマチ発症の過程において滑膜細胞での炎症アンプの活性化とエペレグリンの産生が重要であると考え、炎症アンプを含む滑膜細胞のモデルを用いた関節内の反応のコンピュータモデルを構築し、実験結果と一致する結果が得られた。次いで、免疫細胞が中枢神経内に侵入するゲートを形成するゲートウェイ反射に関しても、炎症アンプを含む血管内皮細胞を用いたモデルを構築し、実験結果と一致する結果が得られた。以上のように、リウマチ・ゲートウェイ反射における炎症アンプの重要性が示された。慢性炎症が関係している動脈硬化発症においても炎症アンプは重要な働きをしているのか、が学術的な問いである。

2. 研究の目的

動脈硬化の慢性炎症との関わりに関して多くの研究が行われているが、基礎的な反応レベルでの研究は少ない。本研究の目的はコンピュータモデルを用いて動脈硬化発症メカニズムを解明することである。

3. 研究の方法

アテローム性動脈硬化は図2に示すように、LDLが内皮下空間で酸化され、酸化LDLになることから始まる。酸化LDLが内皮細胞でケモカインであるVCAMを誘導し、単球を吸着して、内皮下空間に誘引する。単球は、内皮細胞が産生するM-CSFでマクロファージに分化し、酸化LDLを貪食して泡沫化する、というのが主な流れである。この流れをモデル化する。その際に、動脈硬化発症でキーとなる内皮細胞で産生されるVCAMやM-CSFが内皮細胞の炎症アンプ活性化によって誘導されると考えてモデル化する。炎症アンプ活性化にはNFκBを活性化するサイトカインと共にSTAT3を活性化するIL-6の内皮下空間での局所的な蓄積が必要で、それによりLDL濃度依存性に非線形な依存性が生じると考えられる。これらのモデル化により、血液中のLDLやHDL濃度による動脈硬化発症を再現する動脈硬化モデルを構築する。さらに、モデル中に含まれる反応の影響を調べる感受性分析や反応を阻害する各種阻害剤の効果を分

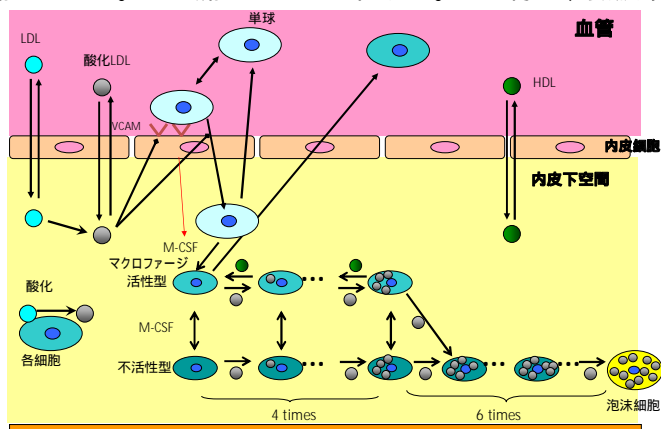


図2 アテローム性動脈硬化のモデル

析し、動脈硬化発症における炎症アンプの重要性を解析するとともに、動脈硬化発症に重要な反応を特定し、発症メカニズムを解明する。

第一段階として、炎症アンプを持つ内皮細胞のモデル、単球細胞のシグナル伝達系のモデル、内皮下空間の反応モデル(図2)で構成される動脈硬化モデルを構築する。パラメータは、同じ血管内皮細胞のモデルであるゲートウェイ反射のモデルのパラメータを参考に、泡沫細胞の蓄積量を出力として、各種文献のデータと比較して、パラメータを調整し、血液中のLDLやHDL濃度による動脈硬化発症を再現する動脈硬化モデルを構築する。野生型とF759変異型と比較し、動脈硬化発症における炎症アンプの重要性を評価する。

第二段階では、モデルに対する各パラメータの影響を調べる感受性分析や各種阻害剤の効果を調べ、動脈硬化発症で重要な反応を特定することにより、発症メカニズムを解明する。

4. 研究成果

血管内皮下で酸化されたLDLは内皮細胞のスカベンジャーレセプターに結合して、NFκBを活性化させる。内皮細胞内の炎症アンプを図3のようにモデル化し、図2の動脈硬化モデルに組み込むことにより、動脈硬化モデルを構築した。健康者の血液中のLDLは60-150mg/dl、HDLは40-80mg/dlである。LDL、HDLの平均の直径と密度から1個の重量を計算すると、それぞれ 5.8×10^{-15} mg、 5.97×10^{-16} mgである。モル濃度を計算すると、それぞれ、286nM、1.86μMとなる。この結果に基づき、正常状態での血液中のLDL、HDL濃度を200nM、2μMとすることにした。シミュレーション結果を図4に示す。図4aの正常状態では、泡沫細胞の蓄積がほとんど起こらないが、高LDL低HDLの図4bでは、泡沫細胞の蓄積が観察される。しかし、STAT3活性化経路の抑制物質であるSOCSの働きがあるので、蓄積は少ない。図5はIL-6レセプターのSOCS結合サイトであるチロシンがフェニルアラニンに変化したF759突然変異マウスを模擬したF759モデルのシミュレーション結果である。SOCSによる抑制が働かないので、大量の泡沫細胞が蓄積される。蓄積の開始時期は図4bと同じで、蓄積が持続して大量に蓄積されることが分かった。図6は血液中のLDL、HDL濃度依存性をシミュレーションした結果である。高LDLで泡沫細胞の蓄積が起こり、HDL濃度が高くなると、蓄積が抑制されることが再現されている。F759モデルでは、正常モデルとほぼ同じ濃度依存性であるが、蓄積量が大きいという結果

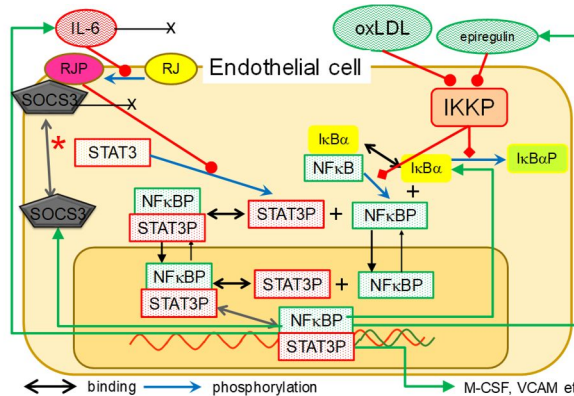


図3 内皮細胞内の炎症アンプのモデル

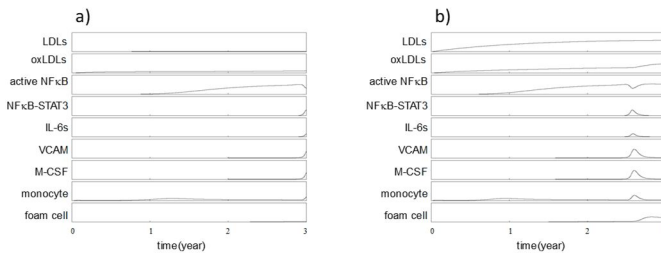


図4 動脈硬化モデルの時間経過。

a)正常濃度、b)高LDL(5μM)低HDL(200nM)

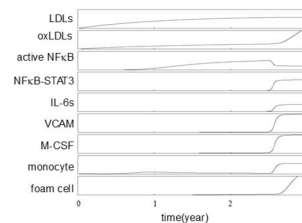


図5 F759モデルの時間経過

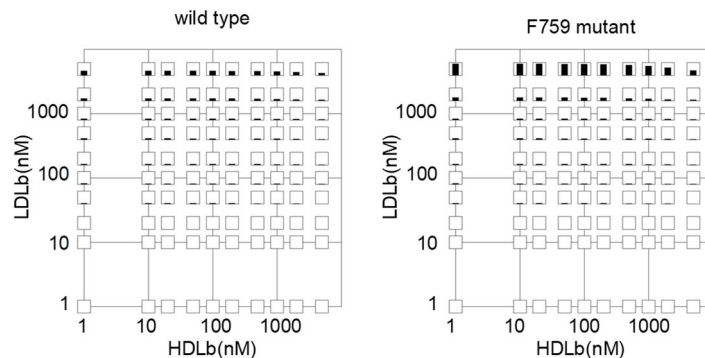


図6 LDL-HDL濃度依存性のシミュレーション結果

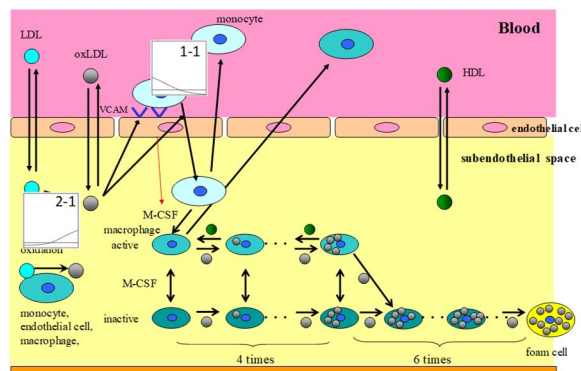


図7 動脈硬化モデルの感受性分析の結果

が得られた (図 6)。

次にモデルに含まれる各反応の内の 1 つのパラメータを変化させ (1/10 から 10 倍まで) 泡沫細胞の蓄積量がどう変化するかを調べる感受性分析 (sensitivity analysis) を行った。その結果を図 7 と図 8 に示す。NFκB を活性化する経路の反応係数 (3-1 - 3-5)、活性型 NFκB の細胞質と核との移動に関係するパラメータ (4-1, 4-2)、NFκB と STAT3 の結合定数 (5-1)、IL-6 の分解に関するパラメータ (6-1)、エプレグリン誘導に関するパラメータ (9-2)、単球の誘因に関するパラメータ (1-1)、LDL の酸化に関するパラメータ (2-1) を変化させると泡沫細胞の蓄積が増加することが分かった。これらの反応が動脈硬化発症に関わっていると考えられる。

標準モデルでは、高 LDL 低 HDL 条件でも泡沫細胞の蓄積は少なく動脈硬化発症とはならない (図 4b)。モデルに含まれるいくつかの反応に異常がある場合に発症につながるのではないかと考え、どの反応のパラメータ変化を組み合わせると発症に至る泡沫細胞の蓄積が起こるか検討した。パラメータを泡沫細胞の蓄積が増大する方向に 10 倍か 1/10 にすると、3 つの反応の組み合わせで図 9a のように泡沫細胞が大量に蓄積するようになる。しかし、10 倍や 1/10 の変化が起こる確率は低いので、この変化による発症は現実的ではないと考えられる。一方、2 倍か 1/2 なら、ある程度の割合で起こることが考えられる。図 10a の組み合わせ (図 8 の 5-1, 6-1, 7-2) で 2 倍や 1/2 の場合には図 9b のように泡沫細胞の蓄積はあまり多くない。そこで、パラメータを 2 倍か 1/2 にして、4 種類から 5 種類の反応を変化させた組み合わせを網羅的に調べ、泡沫細胞の蓄積が起こる組み合わせを探索した。その結果、図 10 の組み合わせが最も泡沫細胞の蓄積が多い組み合わせであった。VCAM による単球の誘因を増加させ (1-1)、活性型 NFκB の核への蓄積を促進し (4-1, 4-2)、VCAM の産生を増加させ (9-1)、SOCS 産生を抑制する (7-2) すると、泡沫細胞の蓄積が起こりやすくなると考えられる。4 個変更や 5 個変更の組み合わせで泡沫細胞蓄積の上位の組み合わせを調べると、VCAM による単球の誘因 (1-1)、VCAM の産生 (9-1)、活性型 NFκB の核への蓄積 (4-1, 4-2)、NFκB と STAT3 の結合 (5-1)、SOCS の産生 (7-2) と SOCS の分解 (7-3) の 7 つの反応の組み合わせであることが分かった。炎症アンプを活性化を促進し (4-1, 4-2, 5-1) SOCS による抑制を抑え (7-2, 7-3)、単球の内皮下への誘導を促進すると泡沫細胞の蓄積が促進されると考えられる。以上のシミュレーション結果から、これらの反応に関わる部分が遺伝的にそのような性質を持っていたり、後天的に変化したりした場合に、高 LDL 低 HDL になるような生活習慣を続けると動脈硬化発症に至るのではないかと考えられる。

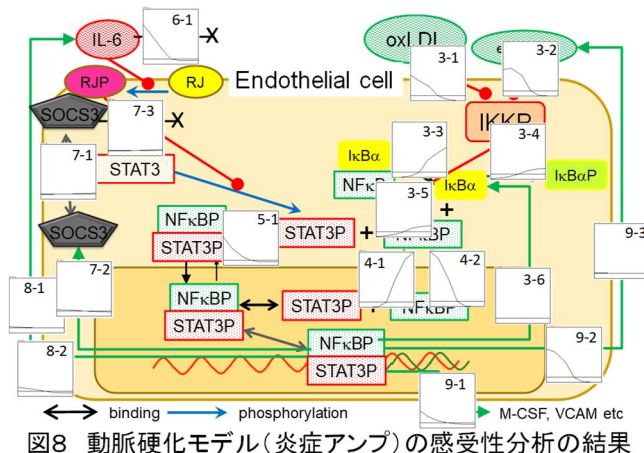


図 8 動脈硬化モデル (炎症アンプ) の感受性分析の結果

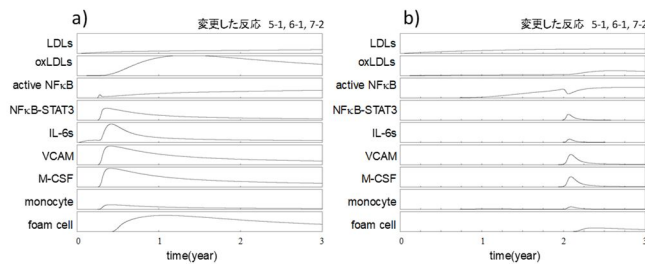


図 9 変更した動脈硬化モデルの時間経過。

a) x10 or x1/10、b) x2 or x1/2

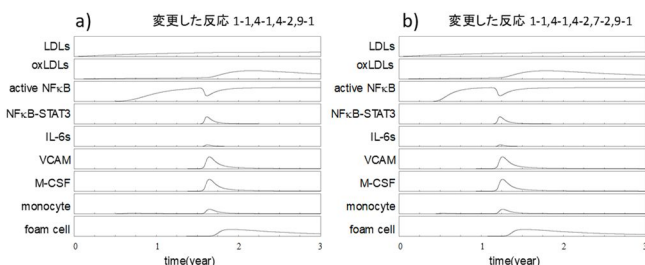


図 10 変更した動脈硬化モデルの時間経過。

パラメータは x2 か x1/2。a) 4 個変更、b) 5 個変更

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 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamamoto Reiji, Yamada Satoshi, Atsumi Toru, Murakami Kaoru, Hashimoto Ari, Naito Seiichiro, Tanaka Yuki, Ohki Izuru, Shinohara Yuta, Iwasaki Norimasa, Yoshimura Akihiko, Jiang Jing-Jing, Kamimura Daisuke, Hojyo Shintaro, Kubota Shimpei I, Hashimoto Shigeru, Murakami Masaaki	4. 巻 35
2. 論文標題 Computer model of IL-6-dependent rheumatoid arthritis in F759 mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 403 ~ 421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxad016	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Saoshi Yamada, Akihiko Yoshimura, Masaaki Murakami
2. 発表標題 Computer model of foam cell formation in atherosclerosis
3. 学会等名 第52回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 山田訓、吉村昭彦、村上正晃、佐田政隆
2. 発表標題 アテローム性動脈硬化における泡沫細胞形成のコンピュータモデル
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山田訓、吉村昭彦、村上正晃、佐田政隆
2. 発表標題 アテローム性動脈硬化における泡沫細胞形成のコンピュータモデル
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Saoshi Yamada, Akihiko Yoshimura, Masaaki Murakami
2. 発表標題 Computer model of foam cell formation in atherosclerosis
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoshi Yamada, Akihiko Yoshimura, Masaaki Murakami
2. 発表標題 Computer model of foam cell formation in Atherosclerosis
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関