

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591033

研究課題名(和文) 腹部大動脈破綻におけるMafBの役割解明及びPET/CTを用いた画像化の試み

研究課題名(英文) The impact of macrophage transcription factor MafB on rupture of abdominal aortic aneurysm

研究代表者

渡邊 哲 (Watanabe, Tetsu)

山形大学・医学部・講師

研究者番号：40359568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：10週齢のアポE欠損マウスとDN-MafB/アポE欠損マウスにアンジオテンシンII 1000 ng/kg/minを4週間皮下投与した。アンジオテンシン投与により有意に大動脈径が拡大し、約半数で大動脈瘤形成を認めた。しかしアポE欠損マウスとDN-MafB/アポE欠損マウスでは、大動脈瘤の形成率に有意差を認めなかった(45.5% vs 50.0%)。大動脈瘤破裂に差がないか検討を行っている。

研究成果の概要(英文)：Transcription factor MafB is expressed only in monocytes and macrophages among hematopoietic cells, which plays a role in the terminal differentiation of macrophages. MafB knockout mice die immediately after birth due to developmental anomalies of neurons in the respiratory centre. We generated transgenic mice that express dominant negative (DN) MafB capable of suppressing endogenous MafB transcription activity only in macrophages. The abdominal aortic aneurysm (AAA) model was developed by 1000 ng/kg/min of angiotensin II infusion in apolipoprotein E-deficient (ApoE KO) mice and ApoE KO/DN MafB mice. There was no difference in development of AAA between ApoE KO mice and ApoE KO/DN MafB mice. We investigate impact of MafB on rupture of AAA.

研究分野：循環器内科学

キーワード：腹部大動脈瘤 マクロファージ MafB

1. 研究開始当初の背景

腹部大動脈瘤は、近年人口の高齢化に伴い増加しており、先進諸国では全死亡原因の1-2%を占める (Nature 2011; 473:308-316)。大動脈瘤が破裂した場合の死亡率は60%以上であり、予後不良な疾患である。腎動脈下の腹部大動脈瘤が、全大動脈瘤の80%以上を占める。長年、腹部大動脈瘤は、単なる動脈硬化の晩期退行病変として考えられてきた。しかし、その発生機序は複雑で、必ずしも動脈硬化と同一ではない。腹部大動脈瘤の最も重要な危険因子は喫煙 (患者の85%) と高血圧であり、動脈硬化の危険因子と共通しているが、糖尿病はむしろ陰性危険因子であり (Ann Intern Med 1997; 126:441-449)、コレステロール値と大動脈瘤による死亡率が相関しないなど、相違点も報告されている。その他の危険因子としては、高齢、男性、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) などが挙げられる (World J Surg 2008; 32:976-986)。解剖学的には、中膜エラスチン線維層が胸部大動脈では80層に対し腎動脈下腹部大動脈では30層と極端に少ない。組織学的には、動脈瘤壁においてエラスチン断片化と変性、慢性炎症、弾性内膜の破壊、中膜平滑筋の減少が観察される。数多くの分子伝達物質や細胞外器質タンパク分解酵素が動脈瘤の進展に関与しているが、最近の研究では matrix metalloproteinase (MMP) の役割に焦点が当てられている。特に MMP-2 と MMP-9 が重要で、大動脈瘤の進展・破裂にはコラーゲン turnover の増加が関与している (Am J Pathol 2007; 170:809-817)。そこで、我々は MMP-9 の主な産生細胞であるマクロファージの役割について注目した。MafB はアミノ末端側に転写活性化領域を有する大 Maf 蛋白ファミリーに属し、AP1 型 basic-leucine zipper 転写因子の1つである。他の骨髄転写因子と異なり、単球とマクロファージに選択的に発現しており (Cell 1996; 85:49-60)、単球の分化に重要な役割を果たす (Blood 2005; 105:2707-2716, EMBO J 2000; 19:1987-1997) とともに、マクロファージの活性化にも重要な役割を果たす。MafB は後脳の発生に関わり MafB 遺伝子欠損マウスは生後早期に死亡する。このため我々はマクロファージ特異的 MafB 優性阻害遺伝子改変マウス (DN-MafB) を作成した (Jin D et al. Mol Cell Biol 1995, Kelly LM et al. EMBO J 2000)。喫煙などの酸化ストレス感受性に増加するマクロファージ転写因子 MafB が、腹部大動脈瘤の破裂に関与するという仮説を立て、検証することとした。

2. 研究の目的

近年マクロファージの表現型を炎症性 (M1) と抗炎症性 (M2) に分け、ヘルパーT細胞の Th1、Th2 相当するという考え方が支配的である一方、動脈硬化薬の stage やサイトカインなどの周辺環境により M2 マクロファージが

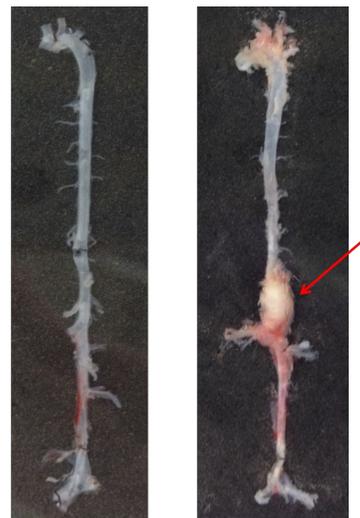
M1 マクロファージに変化するなど単純化できないことが指摘されている (Wolfs IMJ et al. Thromb Haemost 2011)。MafB 恒常的発現抑制細胞および DN-MafB 単球由来マクロファージを用いて、様々なストレス化に MMP-9 や cathepsins の産生に与える影響を検討する。動物実験では、マウス腹部大動脈モデルを作成し、DN-MafB が大動脈破裂に関与するか、組織学的に検討する。

3. 研究の方法

10週齢のアポE欠損マウスと DN-MafB/アポE欠損マウスにアンジオテンシン II 1000 ng/kg/min を4週間皮下投与し、大動脈瘤モデルを作成し、MafB が腹部大動脈瘤破裂に与える影響を検討した。DN-MafB マクロファージおよび MafB 恒常的発現抑制細胞に interferon- γ や leukotriene LTD4 などのサイトカイン刺激や低酸素刺激により、大動脈瘤形成に関係する MMP-9 や cathepsin などのメディエーターの発現変化を検討する。

4. 研究成果

アンジオテンシン II を4週間投与により大動脈径が前値の1.5倍以上に拡大したものを大動脈瘤と定義した。シャム群に比べて、アンジオテンシン投与群では有意に大動脈径が拡大し、約半数で大動脈瘤形成を認めた。しかしながらアポE欠損マウスと DN-MafB/アポE欠損マウスでは、大動脈瘤の形成率に有意差を認めなかった (45.5% vs 50.0%)。



Angiotensin II(-) Angiotensin II(+)

	ApoEKO		DNMafB/ApoEKO	
	AngII (n=11)	control (n=9)	AngII (n=12)	control (n=11)
BW (g)	28.6±2.3**	31.3±2.1	30.6±2.9	29.8±1.9
HR (bpm)	635.8±78.9	637.0±82.6	648.8±55.1	687.7±27.4
sBP (mmHg)	116.8±15.4	114.3±11.5	124.5±8.1 [#]	95.3±12.5
mBP (mmHg)	83.1±11.7	76.5±14.8	86.5±11.0 [#]	52.0±8.2
AoD (mm)	1.20±0.60*	0.93±0.04	1.25±0.51*	0.84±0.03
LVEDD (cm)	0.30±0.06	0.32±0.04	0.32±0.04 [#]	0.27±0.04
FS (%)	41.5±7.7	44.4±7.5	40.4±6.8 [#]	48.6±4.6
post/pre AoD	1.60±0.75*	1.15±0.06	1.80±0.78*	1.11±5.2
AAA形成率 (%)	5/11 (45.5)	0/9 (0)	6/12 (50.0)	0/11 (0)

* P < 0.05 vs. ApoEKO control, # P < 0.05 vs. DN-MafB/ApoEKO+Ang II
[#] P < 0.05 vs. DN-MafB/ApoEKO control

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 7件)

1. Ishino M, Shishido T, Suzuki S, Katoh S, Sasaki T, Funayama A, Netsu S, Hasegawa H, Honda S, Takahashi H, Arimoto T, Miyashita T, Miyamoto T, Watanabe T, Takeishi Y, Kubota I. Deficiency of long pentraxin ptx3 promoted neointimal hyperplasia after vascular injury. *J Atheroscler Thromb*. 2015;22:372-378 査読有
2. Sasaki T, Shishido T, Kadowaki S, Kitahara T, Suzuki S, Katoh S, Funayama A, Netsu S, Watanabe T, Goto K, Takeishi Y, Kubota I. Diacylglycerol kinase alpha exacerbates cardiac injury after ischemia/reperfusion. *Heart Vessels*. 2014;29:110-118 査読有
3. Netsu S, Shishido T, Kitahara T, Honda Y, Funayama A, Narumi T, Kadowaki S, Takahashi H, Miyamoto T, Arimoto T, Nishiyama S, Watanabe T, Woo CH, Takeishi Y, Kubota I. Midkine exacerbates pressure overload-induced cardiac remodeling. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;443:205-210 査読有
4. Katoh S, Honda S, Watanabe T, Suzuki S, Ishino M, Kitahara T, Funayama A, Netsu S, Sasaki T, Shishido T, Miyamoto T, Sadahiro M, Kubota I. Atrial endothelial impairment through toll-like receptor 4 signaling causes atrial thrombogenesis. *Heart Vessels*. 2014;29:263-272 査読有
5. Honda S, Miyamoto T, Watanabe T, Narumi T, Kadowaki S, Honda Y, Otaki Y, Hasegawa H, Netsu S, Funayama A, Ishino M, Nishiyama S, Takahashi H, Arimoto T, Shishido T, Miyashita T, Kubota I. A novel mouse model of aortic valve stenosis induced by direct wire injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34:270-278 査読有
6. Suzuki S, Shishido T, Funayama A, Netsu S, Ishino M, Kitahara T, Sasaki T, Katoh S, Otaki Y, Watanabe T, Shibata Y, Mantovani A, Takeishi Y, Kubota I. Long pentraxin ptx3 exacerbates pressure overload-induced left ventricular dysfunction. *PLoS One*. 2013;8:e53133 査読有
7. Funayama A, Shishido T, Netsu S, Narumi T, Kadowaki S, Takahashi H, Miyamoto T, Watanabe T, Woo CH, Abe J, Kuwahara K, Nakao K, Takeishi Y, Kubota I. Cardiac nuclear high mobility group box 1 prevents the development of cardiac hypertrophy and heart failure. *Cardiovasc Res*. 2013;99:657-664 査読有

〔学会発表〕(計 8件)

1. 国際学会

- 1) Otaki Y, Watanabe T, Takahashi H, Narumi T, Kadowaki S, Honda Y, Arimoto T, Shishido T, Miyamoto T, Kubota I: The HECT type E3 ligase ITCH ameliorates left ventricular remodeling and mortality after myocardial infarction. American Heart Association Scientific Sessions 2014, Chicago (USA); November 2014
- 2) Kadowaki S, Shishido T, Narumi T, Honda Y, Nishiyama S, Takahashi H, Arimoto T, Miyamoto T, Watanabe T,

- Takeishi Y, Kubota I: Senescence marker protein 30 protect the cardiac injury from after ischemia reperfusion. American Heart Association Scientific Sessions 2014, Chicago (USA); November 2014
- 3) Hasegawa H, Kato S, Watanabe T, Takahashi H, Arimoto T, Shishido T, Miyashita T, Miyamoto T, Shibata Y, Kubota I: The role of macrophage transcriptional factor MafB in atherosclerotic plaque stability. ESC CONGRESS 2013, Amsterdam (Netherlands); September 2013
 - 4) Narumi T, Shishido T, Funayama A, Yokoyama M, Kinoshita D, Kadowaki S, Honda Y, Otaki Y, Nishiyama S, Takahashi H, Arimoto T, Miyashita T, Miyamoto T, Watanabe T, Kubota I: Cardiac-specific overexpression of high-mobility group box 1 attenuates cardiomyocyte apoptosis and mitochondrial dysfunction during the pathogenesis of doxorubicin cardiomyopathy. American Heart Association Scientific Sessions 2013, Dallas (USA); November 2013
 - 5) Otaki Y, Takahashi H, Watanabe T, Narumi T, Kadowaki S, Honda Y, Arimoto T, Shishido T, Miyashita T, Miyamoto T, Kubota I: Ubiquitin E3 ligase ITCH ameliorates reactive oxygen species-induced cardiotoxicity through interaction with thioredoxin-interacting protein. American Heart Association Scientific Sessions 2013, Dallas (USA); November 2013
- ## 2 . 国内学会
- 1) 本多勇希, 穴戸哲郎, 高橋徹也, 木下大資, 横山美雪, 門脇心平, 成味太郎, 西山悟史, 高橋大, 有本貴範, 宮本卓也, 渡邊哲, 久保田功: 尿毒症性心筋症発症における成長因子ミッドカインの役割. 第24回日本循環薬理学会, 山形テルサ(山形); 2014年12月
 - 2) Narumi T, Shishido T, Watanabe T, Kubota I: Induction of heat shock protein beta 1 by high-mobility group box 1 attenuates mitochondrial dysfunction and apoptosis associated with doxorubicin-induced cardiomyopathy. 第31回国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会, The 31st Annual Meeting of the International Society for Heart Research Japanese Section, ウィンクあいち(名古屋); 2014年11月
 - 3) Honda Y, Shishido T, Takahashi T, Kinoshita D, Nishiyama S, Takahashi H, Arimoto T, Miyamoto T, Watanabe T, Kubota I: Growth factor midkine deteriorates cardiac hypertrophy via epidermal growth factor receptor signaling: A novel mediator of cardio-renal interaction. 第18回日本心不全学会学術集会, 大阪国際会議場(大阪); 2014年10月
- ## 6 . 研究組織
- (1) 研究代表者
渡邊 哲 (WATANABE Tetsu)
山形大学・医学部・講師
研究者番号: 40359568