

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：37104

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659640

研究課題名(和文)細胞系譜の追跡による大動脈解離の病態解明

研究課題名(英文)The role of developmental program in pathogenesis of acute aortic dissection

研究代表者

青木 浩樹 (AOKI, HIROKI)

久留米大学・循環器病研究所・教授

研究者番号：60322244

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：致死的な疾患である大動脈解離の病態解明を進める中で、大動脈壁を保護する分子としてテネascin Cを同定し、その保護メカニズムを明らかにした。テネascin Cの発現が血管平滑筋細胞の発現起源により異なる可能性を追求したが、マウス胎児の詳細な検討からは、発現起源特異的なテネascin Cの発現は否定的であった。研究の基盤技術として、ヒトと類似した大動脈解離を起こすマウスモデルを確立した。

研究成果の概要(英文)：The goals of this project were 1) to clarify the role of developmental gene program in the protection of aortic walls against the hemodynamic and humoral stress, and 2) to establish the mouse model of acute aortic dissection. We identified tenascin C as a stress-activated molecular safeguard to reinforce the aortic walls, of which failure leads to the development of acute aortic dissection. We found that the expression pattern of tenascin C does not match with the distribution of the cell lineages during the development of the aorta in mouse embryos, suggesting that heterogeneity in the tenascin C expression pattern is determined by the distribution of aortic stress rather than the endogenous developmental gene program. As a second goal of this project, we established a mouse model of acute aortic dissection that recapitulates the phenotype of human disease by continuous infusion of beta-aminopropionitrile and angiotensin II.

研究分野：外科系臨床医学

科研費の分科・細目：胸部外科学

キーワード：心臓大血管外科学 大動脈解離 器官形成

1. 研究開始当初の背景

【臨床的背景】

大動脈解離は代表的な成人大動脈疾患で、内膜から中膜が破断する致死的疾患である。一部の遺伝疾患を除いて病態は殆ど解明されておらず、発症・予後予測法や内科的治療法は確立していない。

【大動脈解離と細胞系譜】

大動脈解離の好発部位である弓部付近では、発生起源(系譜)が異なる組織が隣接するため、系譜相互の構造的・機能的ミスマッチが解離を誘発するとの仮説が提唱されている。しかし直接的な証拠は無く、この説は想像の域を出なかった。

【研究代表者独自の知見】

申請者は大動脈疾患の病態解明に取り組む中で(Nature Medicine 2005 他)、ストレスにより平滑筋細胞から分泌され、炎症と線維化を制御するテネイシン C (TNC) に着目し、以下の3点を発見した(図1)。

▶ 大動脈壁へのストレスは大動脈弓部と胸部大動脈下部の TNC 発現を誘導する

▶ TNC ノックアウトマウスの大動脈にストレスをかけると、胸部大動脈下部に解離を起こす

▶ 大動脈弓部の TNC 発現パターンは心臓神経堤由来の組織分布と非常に類似する(図2)

以上から申請者は、TNC が大動脈解離の抑制因子であると結論し、その発現の違いこそが長らく不明であった「細胞系譜のミスマッチ」である可能性に気づいた。

2. 研究の目的

本研究では TNC に着目して大動脈解離の細胞系譜仮説を検証する。具体的には以下の3点を実施する。

1. TNC 発現細胞の細胞系譜同定

2. 大動脈弓部解離モデルの開発

3. 弓部における TNC 発現パターンの意義解明

3. 研究の方法

テネイシン C の発現細胞系譜を明らかにするために、テネイシン C の一方の遺伝子座に

LacZ 遺伝子を組み込んだテネイシン C レポーターマウスを用いた。タンパクレベルでの発現を検討するために、免疫染色を行なった。弓部大動脈解離を起こすマウスモデルを作成するために、コラーゲン/エラスチン架橋酵素の阻害薬であるβアミノプロピオニトリルとアンジオテンシン II の効果を検討し、再現性良く胸部大動脈解離を発症する条件を検討した。

4. 研究成果

本研究は、ストレスによるテネイシン C 発現が大動脈解離の阻止機構であるとの申請者の知見に基づき、その発現制御メカニズムから大動脈解離の分子病態に迫ろうとする計画である。ストレス下の大動脈におけるテネイシン C の発現パターンは心臓神経堤細胞の分布とほぼ一致することから、ストレスによる発現応答が血管平滑筋細胞の発生起源により異なるとの仮説を立てた。発生中の大動脈原基である鰓弓動脈が形成と消失を繰り返す中で、テネイシン C の発現も予想以上にダイナミックに変化していることを見いだした。さらに詳細な検討から、テネイシン C の発現レベルはダイナミックに変化するが、細胞起源と一致する発現レベルの差異は明らかではなく、また異なる起源の細胞群が接する部位における発現レベルにも明瞭な境界を認めなかった。このことから、少なくとも発生段階の平滑筋細胞ではテネイシン C の発現能力に大きな差異は無いと結論づけられた。

同時に、大動脈弓部付近で解離が起こるモデルの確立にも取り組んだ。当初、胸腔アプローチにより胸部大動脈に塩化カルシウムを塗布し大動脈硬化を惹起するモデルを試みたが、手術手技が煩雑で生存率も低かった。リジン酸化酵素(コラーゲン/エラスチン架橋酵素)阻害薬βアミノプロピオニトリルとアンジオテンシン II をマウスに投与し、弓部付近で大動脈解離を高率に発症する投与量と投与スケジュールを決定した。解離発症部位は左鎖骨下動脈付着部位と動脈管索付着部位を結ぶ線の前後であった。

以上より、発生学上のテネイシン C 発現パ

ーンを明らかにし、着目部位である大動脈弓部に再現性良く解離を発症するモデルを確立した。

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 6 件)

1. Yokoyama, U., S. Minamisawa, A. Shioda, R. Ishiwata, M.H. Jin, M. Masuda, T. Asou, Y. Sugimoto, H. Aoki, T. Nakamura, and Y. Ishikawa. 2014. Prostaglandin E2 Inhibits Elastogenesis in the Ductus Arteriosus via EP4 Signaling. *Circulation*. 129:487-496. 査読有
2. Kimura, T., K. Shiraishi, A. Furusho, S. Ito, S. Hirakata, N. Nishida, K. Yoshimura, K. Imanaka-Yoshida, T. Yoshida, Y. Ikeda, T. Miyamoto, T. Ueno, K. Hamano, M. Hiroe, K. Aonuma, M. Matsuzaki, T. Imaizumi, and H. Aoki. 2014. Tenascin C protects aorta from acute dissection in mice. *Sci Rep*. 4:4051. 査読有
3. Yoshimura, K., and H. Aoki. 2012. Recent advances in pharmacotherapy development for abdominal aortic aneurysm. *Int J Vasc Med*. 2012:648167. 査読有
4. Yokoyama, U., R. Ishiwata, M.H. Jin, Y. Kato, O. Suzuki, H. Jin, Y. Ichikawa, S. Kumagaya, Y. Katayama, T. Fujita, S. Okumura, M. Sato, Y. Sugimoto, H. Aoki, S. Suzuki, M. Masuda, S. Minamisawa, and Y. Ishikawa. 2012. Inhibition of EP4 signaling attenuates aortic aneurysm formation. *PLoS One*. 7:e36724. 査読有
5. Tazume, H., K. Miyata, Z. Tian, M. Endo, H. Horiguchi, O. Takahashi, E. Horio, H. Tsukano, T. Kadomatsu, Y. Nakashima, R.

Kunitomo, Y. Kaneko, S. Moriyama, H. Sakaguchi, K. Okamoto, M. Hara, T. Yoshinaga, K. Yoshimura, H. Aoki, K. Araki, H. Hao, M. Kawasuji, and Y. Oike. 2012. Macrophage-derived angiopoietin-like protein 2 accelerates development of abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 32:1400-1409. 査読有

6. Ohmura, H., H. Yasukawa, T. Minami, Y. Sugi, T. Oba, T. Nagata, S. Kyogoku, H. Ohshima, H. Aoki, and T. Imaizumi. 2012. Cardiomyocyte-specific transgenic expression of lysyl oxidase-like protein-1 induces cardiac hypertrophy in mice. *Hypertens Res*. 35:1063-1068. 査読有

[学会発表] (計 12 件)

1. 第 91 回日本生理学会大会 (2014 年 3 月 16 日～18 日)、鹿児島
Hiroki Aoki. Hemodynamic stress on aortic walls: adaptation and maladaptation
2. 第 78 回日本循環器学会学術集会 (2014 年 3 月 21 日～23 日)、東京
青木浩樹. 大動脈疾患における炎症と組織リモデリング
3. 第 78 回日本循環器学会学術集会 (2014 年 3 月 21 日～23 日)、東京
Satoko Ohno, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Tsutomu Imaizumi, Yoshihiro Fukumoto. Macrophage Cytokine Signaling Determines the Development of Acute Aortic Dissection.
4. 第 78 回日本循環器学会学術集会 (2014 年 3 月 21 日～23 日)、東京
Aya Furusho, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Satoko Ohno, Norifumi

- Nishida, Saki Hirakata, Sohei Ito, Hideo Yasukawa, Yoshihiro Fukumoto. B cell Promotes the Development of Abdominal Aortic Aneurysm.
5. American Heart Association Scientific Sessions 2013. November 16 - 20, 2013. Dallas, TX, USA.
Satoko Ohno, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Souhei Itou, Tsutomu Imaizumi: Deciphering the Sequential Molecular Events during Onset of Acute Aortic Dissection.
 6. American Heart Association Scientific Sessions 2013. November 16 - 20, 2013. Dallas, TX, USA.
Michihide Nishihara, Hiroki Aoki, Satoko Ohno, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Shohei Ito, Hideo Yasukawa, and Tsutomu Imaizumi: Involvement of IL-6 in Pathogenesis of Abdominal Aortic Aneurysm.
 7. 第 21 回日本血管生物医学会学術集会 (2013 年 9 月 26 日～28 日)、大阪
青木浩樹. 大動脈疾患における danger signal と炎症
 8. FASEB Summer Meeting “MATRICELLULAR PROTEINS IN DEVELOPMENT, HEALTH, AND DISEASE” July 28-August 2, 2013 Vermont Academy, Saxtons River, VT
Kyoko Imanaka-Yoshida, Naoshi Shimojo, Hiroki Aoki, Koichi Yoshimura, Toshimichi Yoshida: Tenascin-C in cardiovascular tissue injury and repair.
 9. 第 77 回日本循環器学会学術集会 (2013 年 3 月 15 日～17 日 ; 横浜)
Michihide Nishihara, Hiroki Aoki, Satoko Ohno, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Shohei Ito, Hideo Yasukawa, and Tsutomu Imaizumi: Involvement of IL-6 in Pathogenesis of Abdominal Aortic Aneurysm.
 10. 第 77 回日本循環器学会学術集会 (2013 年 3 月 15 日～17 日 ; 横浜)
Satoko Ohno, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Souhei Itou, Tsutomu Imaizumi: Macrophage IL-6 Signaling is Critically Involved in the Progression of Acute Aortic Dissection
 11. American Society for Cell Biology 2012 Annual Meeting, San Francisco, CA, USA, December 15-19, 2012
Aoki H, Kimura T, Yoshimura K, Shiraishi K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Ikeda Y, Miyamoto T, Ueno T, Hamano K, Hiroe M, Aonuma K Matsuzaki M, Imaizumi T; Tenascin C protects aorta from acute dissection in mice.
 12. 第 35 回日本高血圧学会総会 (2012 年 9 月 20 日 - 22 日 ; 名古屋)
Ohno S, Aoki H, Nishihara M, Furusho A, Hirakata S, Nishida N, Yasukawa H, and Imaizumi T; Macrophage IL-6 Signaling is Critically Involved in the Pathogenesis of Acute Aortic Dissection (高得点演題)
- [図書] (計 0 件)
- [産業財産権]
- 出願状況 (計 0 件)
- 名称 :
- 発明者 :

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 1 件）

名称：薬物送達システム
発明者：青木浩樹、吉村耕一、他 4 名
権利者：山口大学
種類：特許
番号：第 5471447 号
取得年月日：平成 26 年 2 月 14 日
国内外の別：国内

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

青木 浩樹 (AOKI, Hiroki)
久留米大学・循環器病研究所・教授
研究者番号：60322244

(2) 研究分担者

吉村 耕一 (YOSHIMURA, Koichi)
山口大学・医学系研究科・准教授（特命）
研究者番号：00322248

今中（吉田） 恭子 (IMANAKA-YOSHIDA,
Kyoko)
三重大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：00242967

(3) 連携研究者