

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861116

研究課題名(和文)血管平滑筋STAT3が大動脈解離を抑制する分子メカニズムの解明

研究課題名(英文)The molecular mechanism of STAT3 in vascular smooth muscle cells in suppressing aortic dissection

研究代表者

平方 佐季(HIRAKATA, SAKI)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：60597425

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：大動脈解離組織では、血管平滑筋でSTAT3が活性化している。遺伝子改変マウスを用いたマウス大動脈解離モデルの検討により、平滑筋STAT3活性化は大動脈解離抑制的に働くことを見いだした。大動脈解離組織を用いた解析では、発症前に炎症応答が生じ、平滑筋STAT3活性化は外膜の線維芽細胞増加により膠原線維増加、外膜の強化を促し、大動脈壁の細胞外マトリックス構造を補強することで、大動脈壁を保護し、大動脈解離を抑制することが示唆された。引き続き、分子等を含めた詳細なメカニズムについて研究を進めている。

研究成果の概要(英文)：In the tissue of aortic dissection, STAT3 is activated in vascular smooth muscle cells (VSMCs). By examination of mouse model of aortic dissection using genetically modified mice, we found out that activation of STAT3 in VSMCs suppress aortic dissection. By the analysis of aortic dissection tissue, we found out that inflammatory response occurs before the onset of dissection, and also that STAT3 activation in VSMCs promotes collagen fiber increase, adventitial reinforcement and protects the aortic wall by reinforcing the extracellular matrix structure of the aortic wall, and, as for suppress aortic dissection. We continue researching about the detailed mechanism including molecules sequentially.

研究分野：医歯薬学

キーワード：血管外科学 大動脈解離 分子生物学 血管

1. 研究開始当初の背景

【臨床的背景】

大動脈解離は、破裂により突然死を来す重篤な疾患であり、本邦で年間1万～2万例の発症があると推定される。上行大動脈解離は直ちに生命に危険が及ぶため手術適応となるが、それ以外では降圧・安静以上の積極的治療を欠く。たとえ一命を取り留めたとしても、発症後5年以内に約半数の患者が大動脈関連イベントを起こすとされる。しかし、解離の分子病態の解明は進んでおらず、積極的な内科的治療や病態バイオマーカーの開発を阻んでいる。

【学術的背景】

大動脈解離の病態には不明な点が多いが、マウスモデルを用いた研究から解離増悪因子として IL-6、MCP-1、MMP-9 が報告されている(J Clin Invest 2009、Circulation 2012)。これらの中で IL-6 は JAK/STAT3 を活性化するサイトカインであり、作用する細胞により多面的な作用を有する。

【申請者独自の知見】

申請者は大動脈疾患における JAK/STAT3 の役割解明に取り組んでおり、これまでに IL-6 が大動脈瘤促進的に働くこと、マクロファージ STAT3 活性化が大動脈解離増悪に働くことを明らかにしてきた(Circulation Journal 76, Suppl.1, 1324, 2012、AHA2013 等で発表)。大動脈解離組織では炎症細胞だけでなく血管平滑筋細胞でも STAT3 が活性化している(J Surg Res 2011、自験)。この知見に基づき、解離病態における平滑筋細胞 STAT3 の役割を明らかにするために、申請者は平滑筋特異的に STAT3 活性を操作する遺伝子改変マウスを作成した(図1. H24-H25 科研費若手研究B)。1つは、平滑筋特異的 STAT3 ノックアウト(smSTAT3-KO)、もうひとつは、平滑筋特異的に STAT3 のネガティブフィードバック因子 SOCS3 をノックアウトしたマウスである(smSOCS3-KO)(図1)。

大動脈解離モデル(コラーゲン/エラスチン架橋酵素阻害薬 BAPN とアンジオテンシン II 投与: BAPN+AngII モデル、Circulation 2012)で検討したところ、平滑筋細胞 STAT3 を抑制すると、大動脈解離が増悪することを見いだした。

これらの申請者の知見から、マクロファージ STAT3 活性化は解離促進、血管平滑筋 STAT3 活性化は解離抑制という相反する役割を果たすことが強く示唆された。血管平滑筋

STAT3 が解離発症・進展を抑制するメカニズムの解明は、病態の理解と診断・治療戦略開発に重要な知見を与えると確信し、本計画を着想した。

平滑筋細胞における STAT3 の機能として、増殖促進(Biochim Biophys Acta 2007)やアポトーシス抑制(Arterioscler Thromb Vasc Biol 2011)が知られている。血管平滑筋細胞は血管傷害部位に遊走・増殖して組織修復で中心的な役割を果たす。このことから申請者は、大動脈解離病態において血管平滑筋細胞 STAT3 は細胞の維持・増殖を通じて大動脈の強化・修復を促進するとの仮説を立てるに至った

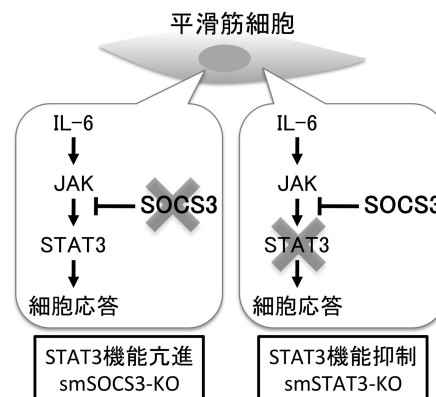


図1. 本研究で用いる遺伝子改変マウス SM22 プロモーターを用いた Cre-loxP システムで、平滑筋特異的 SOCS3 及び STAT3 のノックアウトマウスを作成した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、血管平滑筋 STAT3 が大動脈解離を抑制するメカニズムを明らかにすることである。さらに、解離モデルで得られる知見がヒト大動脈解離の病態にあてはまるかを検証する。

3. 研究の方法

【実験系】

(1) マウス大動脈解離モデル

各遺伝子改変マウスを用いた BAPN+AngII モデルを作成し、その組織や細胞を用いて平滑筋 STAT3 活性操作の効果を検証した。また、解離発症に先立つ平滑筋 STAT3 依存性変化を以下の観察項目を用いて検討した。

(2) ヒト大動脈解離組織

患者本人の書面による了承を得た上で、腹部

大動脈瘤の人工血管置換術に際して組織を採取し、病理組織標本を用いて検討した。

【検討項目】

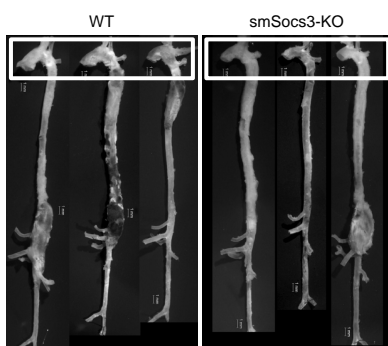
マウス大動脈解離では、灌流固定標本で肉眼像を観察し、組織を用いて線維化や STAT3 活性化、細胞増殖を免疫蛍光染色で観察した。また、血管破断試験装置を用いて血管強度を測定した。ヒト大動脈解離組織では、STAT3 の活性化を免疫染色で確認した。

4. 研究成果

(1) マウス大動脈解離モデル

肉眼的評価

前述の2つ遺伝子改変マウスを用いて平滑筋 STAT3 活性を操作し、大動脈解離の重症度を各々野生型と比較した。その結果、平滑筋 STAT3 機能亢進マウスでは、弓部大動脈解離が抑制された(下図)。



組織学的評価

野生型及び各遺伝子改変マウスの大動脈解離組織を用いて、線維化や平滑筋細胞における STAT3 の活性化と細胞増殖を、ピクロシリウスレッド染色及び平滑筋アクチンと細胞増殖のマーカーKi67とSTAT3の多重染色を用いて観察した。その結果、平滑筋 STAT3 機能亢進マウスでは、外膜の線維化が増加し、非平滑筋細胞が増加していた。さらに、線維芽細胞マーカーER-TR7 で染色すると平滑筋 STAT3 機能亢進マウスで線維芽細胞が増加していた。

大動脈壁強度の評価

血管強度測定装置を用いて、平滑筋 STAT3 機能亢進マウスの大動脈壁強度を測定したところ、外膜の血管強度が増加していた。

(2) ヒト大動脈解離組織

免疫組織化学で、炎症細胞、平滑筋細胞で STAT3 の活性化を認めた。

まとめ

ヒトの実験から、大動脈解離の病態には

STAT3 の活性化がみられることを再確認した。また、遺伝子改変マウスの実験から、血管平滑筋における STAT3 活性化は、外膜の線維芽細胞増加に伴う膠原繊維の増加により外膜を強化し、大動脈壁の細胞外マトリックス構造を補強することで大動脈壁を保護し、大動脈解離を抑制していると考えた。

以上から、本研究の目的であった、血管平滑筋 STAT3 が大動脈解離を抑制するメカニズムを明らかにすることへつながる、STAT3 の重要な役割を見出すことができた。引き続き、詳細な分子メカニズムについて研究を進めていく。

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1件)

1. Nobuhiro Tahara, Saki Hirakata, Kota Okabe, Atsuko Tahara, Akihiro Honda, Sachiyo Igata, Hayato Kaida, Tohi Abe, Hidetoshi Akashi, Hiroyuki Tanaka, Yoshihiro Fukumoto
FDG-PET/CT images during 5 years before acute aortic dissection
European Heart Journal、査読有、
Vol.37、Issue 24、2016、p.1933
<http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehw075>

〔学会発表〕(計4件)

1. Saki Hirakata, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Satoko Ohno, Aya Furusho, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Makiko Hayashi, Yoshihiro Fukumoto
Stat3 in vascular smooth muscle cells protects aorta from dissection
European Society Of Cardiology 2015, London, Aug.29-Sep.2, 2015

2. Satoko Ohno, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Makiko Hayashi, Yoshihiro Fukumoto
The role of macrophage STAT3 signaling in pathogenesis of aortic dissection
European Society Of Cardiology 2015, London, Aug.29-Sep.2, 2015

3. Norifumi Nishida, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Satoko Ohno, Aya

Furusho, Saki Hirakata, Sohei Ito, Makiko Hayashi, Yoshihiro Fukumoto

Excessive sodium intake worsens aortic dissection via IL-17 pathway

European Society Of Cardiology 2015, London, Aug.29-Sep.2, 2015

4.Saki Hirakata, Satoko Ohno, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Yoshihiro Fukumoto

STAT3 in vascular smooth muscle cells protects aorta from dissection by reinforcing aortic wall

American Heart Association Scientific sessions 2015, Orlando, Florida, November7-11, 2015

6 . 研究組織

(1)研究代表者

平方 佐季 (HIRAKATA SAKI)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：60597425

(2)研究分担者 なし

()

研究者番号：

(3)連携研究者 なし

()

研究者番号：