

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26861538

研究課題名(和文) 心筋梗塞後の心筋リモデリングにおける炎症性サイトカインIL17の役割

研究課題名(英文) The role of interleukin-17 in left ventricular remodeling of acute myocardial infarction

研究代表者

佐々木 知子 (SASAKI, Tomoko)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：30597430

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)：心筋梗塞後心破裂は致死性の合併症であるが、機序の詳細については不明な点が多い。本研究では心筋梗塞モデル作成後、以下の評価を行った。インターロイキン欠損(IL17-KO)マウスは野生型マウスと比較し、心筋梗塞後の心破裂発症は有意に抑制されていた。好中球、マクロファージの組織免疫染色では心筋への炎症細胞浸潤が抑制され、real-time PCRで細胞外マトリックス分解に関わる遺伝子や炎症性物質の心筋での発現が抑制されていた。このことからIL17は心筋梗塞後の心破裂に重要な働きをしており、急性期の左室リモデリングに炎症や細胞外マトリックスに関わる遺伝子の関与が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Interleukin-17 (IL-17) is a key cytokine produced by activated lymphocytes, which plays pathogenic roles in the development of inflammatory diseases. Cardiac rupture after myocardial infarction(AMI) is a fatal complication, however, little is known about the role of inflammatory process in the onset of cardiac rupture. We induced permanent ligation of the left anterior descending coronary artery in IL17 knockout mice (IL17-KO) and wild-type (WT) mice. Approximately 30% of WT mice died with cardiac rupture after AMI. In contrast, none of the IL17-KO mice had cardiac rupture. Immunostaining showed that neutrophils and macrophages infiltration in the hearts were less in IL17-KO mice than WT mice. Real-time PCR revealed that the expressions of inflammatory molecules were less in IL17-KO mice than those in WT mice. These results suggest that cardiac rupture after AMI is prevented in IL17-KO mice by inhibiting leukocytes infiltration and inflammatory genes expression.

研究分野：循環器

キーワード：サイトカイン 急性心筋梗塞 炎症 IL17

1. 研究開始当初の背景

心筋梗塞を発症すると、その領域の心筋は壊死・収縮不全を起こし梗塞巣は次第に拡大する。心室形態の変化は梗塞を起こした領域に限らず、梗塞を起こしていない領域にも波及する。このような形態の変化を、左室リモデリングといい、左室リモデリングは単に形態の変化だけではなく、その後の心不全の発症や予後に密接に関与する。

心筋梗塞発症後、血中で炎症性サイトカインや炎症のマーカーである CRP が上昇し、心筋に白血球が浸潤する。炎症性サイトカイン、炎症マーカーや白血球の浸潤は梗塞巣の拡大を促進し、心不全の増悪因子となる。

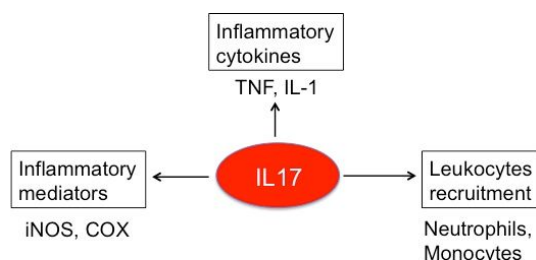
梗塞心筋には T 細胞主体の炎症細胞浸潤を認め、梗塞後心筋リモデリングの病態に炎症が増悪因子として関与することが示されている。インターロイキン 17(IL17)は強力な炎症性サイトカインであり、IL-6 や TNF などの炎症性サイトカイン、CXCL1/2 や IL-8 などのケモカイン、iNOS や COX2 などの炎症性物質の発現を誘導し、強力な炎症を惹起する。また、IL17 は MMP などの細胞外マトリックス分解酵素の発現を促進することも知られている。

IL17-KO マウスを用いた心筋梗塞後慢性期リモデリング評価では梗塞後の心機能や左室重量/体重比、線維化抑制を示していた。更なる機序解明の為にモデル作成を追加したところ、IL17-KO マウスでは急性期合併症である心破裂発症を抑制することが示された。また、急性期に野生型マウスが心破裂を発症する事で慢性期の評価が困難となった。

心破裂の多くは心筋梗塞後 1 週間までの早期に発症し、病院内死亡の原因の 5-30% を占めるといわれている。梗塞心筋における炎症、出血や細胞間質の破綻が梗塞後の心破裂に重要とされている。しかしながら、梗塞後心破裂の機序の詳細については不明な点が多く、その発症メカニズムを明らかにすることは重要であると着想した。

そこで本研究では IL17 の発現を阻害することで心筋梗塞後の心破裂発症が抑制されるかを検討し、そうであればメカニズムの解明も検討を加える。

(図 1)



COX: cyclooxygenase

2. 研究の目的

本研究の目的は、梗塞後心筋リモデリングに

おける IL17 の役割を解明することである。IL17-KO マウスを用いて、梗塞後心破裂に対する機序を検証する。

3. 研究の方法

C57BL6 バックグラウンドの野生型マウス (WT) と IL17-KO マウス (全身性ノックアウト) を使用する。心筋梗塞は左前下行枝近位部を恒久的に結紮し作成する。モデル作成後、以下の項目を評価する。

IL17-KO マウスを用いた梗塞後の心破裂発症率の追跡

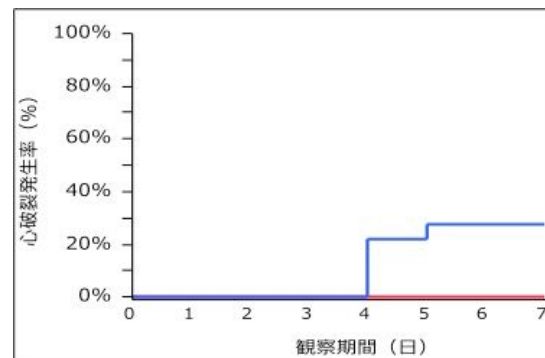
IL17-KO マウスを用いた梗塞後急性期 (3 日目) の表現型の解析: TTC 染色による梗塞エリア評価、血圧、心エコー、左室重量計測

IL17-KO マウスにおける心破裂発症抑制の機序解析: 組織免疫染色、real-time PCR

4. 研究成果

IL17-KO マウスを用いた梗塞後の心破裂発症率の追跡

(図 2) 心破裂発症率を追跡した。野生型マウスと比較し、IL17-KO マウスでは心筋梗塞後死亡率が抑制されていた。野生型マウスでは約 30% 心破裂により死亡しているのに対し、IL17-KO マウスでは心破裂発症率は 0 であった。



IL17-KO マウスを用いた梗塞後急性期の表現型の解析

【TTC 染色による梗塞エリア評価】

心筋梗塞後 TTC 染色で梗塞エリアを評価した。梗塞エリアは野生型マウスと IL17-KO マウスで差は認めなかった。

【血圧】

心筋梗塞後の血圧は野生型マウスと IL17-KO マウスで差は認めなかった。

【心エコー】

心筋梗塞 3 日目の心エコーでは野生型マウスと IL17-KO マウスで %FS に差は認めなかった。
%FS: 左室内径短縮率

【左室重量/体重比】

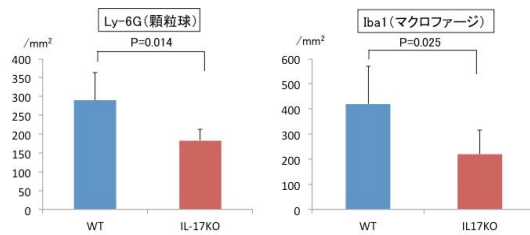
心筋梗塞 3 日目の左室重量(mg)/体重(g)を計測した。心筋梗塞後、野生型マウスと IL17-KO マウスで差は認めなかった。

IL17-KO マウスにおける心破裂発症抑制の機序解析

【組織免疫染色】

(図 3)

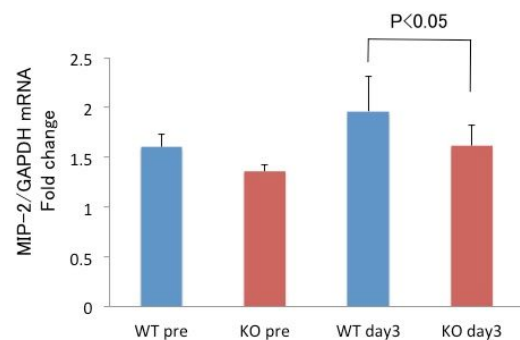
心筋梗塞 3 日目の炎症細胞浸潤を組織免疫染色で評価した。心筋梗塞後の Ly-6G(顆粒球) Iba1(マクロファージ)陽性細胞をカウントしたところ、野生型マウスと比較し、IL17-KO マウスでは炎症細胞浸潤が抑制されていた。



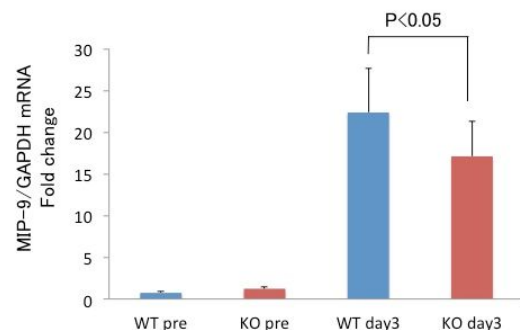
【RT-PCR】

心筋梗塞 3 日目の心臓での MMP2, MMP9, COX2 の発現を RT-PCR で評価した。野生型マウスと比較し、IL17-KO マウスではそれぞれ発現が抑制されていた。

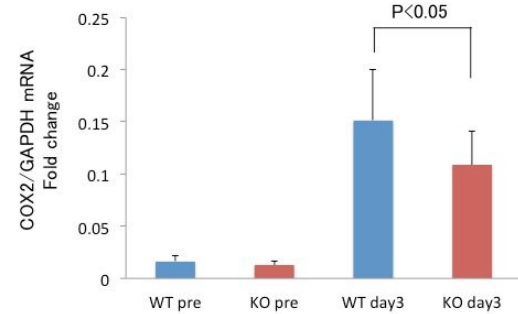
(図 4) RT-PCR(MMP2)



(図 5) RT-PCR(MMP9)



(図 6) RT-PCR(COX2)



まとめ

IL17-KO マウスは野生型マウスと比較し
・心筋梗塞後の生存率が保たれ、心破裂発症率が抑制されていた。
・心筋梗塞後急性期の血圧、梗塞エリア、%FS、左室重量は差を認めなかった。
・心筋梗塞後急性期の心筋への炎症細胞浸潤が抑制されていた。
・心筋梗塞後の心筋での MMP2, MMP9, COX2 の発現が抑制されていた。

野生型マウス(C57BL6 バックグラウンド)は既知の報告でも心筋梗塞後約 30%心破裂を発症すると報告されている。本研究でも同様に心筋梗塞後 3-5 日目の急性期に野生型マウスは心破裂を発症していたが、IL17-KO マウスではその発症率は 0 であった。心破裂発症に関わる梗塞後の収縮期血圧や梗塞エリア、差室収縮能を評価したところ、急性期は両群で有意差を認めなかった。炎症細胞浸潤を評価したところ、IL17-KO マウスでは心筋梗塞後の炎症細胞浸潤が抑制されており、分子生物学的評価を進めている。現在 RT-PCR で細胞外マトリックス分解酵素(MMP2, MMP9)や炎症性物質(COX2)の心臓での発現が IL17-KO マウスで抑制されていることが確認され、その他の炎症性サイトカインやケモカイン等の関与も評価していく方針である。IL17 を抑制することで心破裂発症を抑制し、さらにその機序を解明することで新たな治療標的の確立につながる可能性があり、今後も研究を継続していく。

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 3件)

Oba T, Yasukawa H, Nagata T, Kyogoku S, Minami T, Nishihara M, Ohshima H, Mawatari K, Nohara S, Takahashi J, Sugi Y, Igata S, Iwamoto Y, Kai H, Matsuoka H, Takano M, Aoki H, Fukumoto Y, Imaizumi T : Renal nerve-mediated erythropoietin release confers cardioprotection during remote ischemic preconditioning.
Circ J 79: 1557-1567, 2015 査読有

Nagata T, Yasukawa H, Kyogoku S, Oba T, Takahashi J, Nohara S, Minami T, Mawatari K, Sugi Y, Shimozono K, Pradervand S, Hoshijima M, Aoki H, Fukumoto Y, Imaizumi T : Cardiac-Specific SOCS3 Deletion Prevents In Vivo Myocardial Ischemia Reperfusion Injury through Sustained Activation of Cardioprotective Signaling Molecules
PLOS ONE 10: e0127942:1-25, 2015 査読有

Hara M, Takahashi T, Mistumasu C, Igata S, Takano M, Minami T, Yasukawa H, Okayama S, Nakamura K, Okabe Y, Tanaka E, Takemura G, Kosai K, Yamashita Y, Matsuishi T : Disturbance of cardiac gene expression and cardiomyocyte structure predisposes Mecp2-null mice to arrhythmias.
Sci Rep 5: 11204, 2015

〔学会発表〕(計 1件)

第81回日本循環器学会学術集会
Interleukin-17 Deletion Prevents Cardiac Rupture after Acute Myocardial Infarction in Mice
発表者：佐々木 知子
2017年03月19日

〔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 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐々木 知子 (SASAKI, Tomoko)
久留米大学・医学部・助教
研究者番号：30597430

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()