

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390334

研究課題名(和文)大動脈解離の分子メカニズム：細胞間相互作用による大動脈壁強度制御機構の解明

研究課題名(英文)Molecular mechanism of aortic dissection : regulation of aortic wall tensile strength through cell-cell interactions

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) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：マクロファージ特異的SOCS3ノックアウトではマクロファージ分化が炎症性M1優位となり解離発症が亢進した平滑筋細胞特異的SOCS3ノックアウトマウス(smSOCS3-KO)では、外膜コラーゲン線維の沈着および組織強度が亢進しており、解離発症が抑制された。ヒト解離組織では中膜外側にSTAT3の活性化を認め、外膜と接する部分の中膜および外膜にマクロファージ浸潤を認めた。STAT3活性化は中膜平滑筋細胞およびマクロファージの双方に認められた。解離発症前後にIL-6系シグナルが活性化し、その作用は細胞種特異的であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Aortic dissection (AD) is a frequently fatal medical emergency for which molecular pathogenesis is largely unknown. We examined the role of JAK/STAT signaling in macrophages and vascular smooth muscle cells. In human AD tissue, macrophage infiltration was observed in adventitia and outer layer of the media. STAT3 was strongly activated in macrophages and outer layer of the medial smooth muscle cells. In mouse AD model, activation of JAK/STAT in macrophages promoted proinflammatory M1 differentiation and exacerbated AD progression. Activation of JAK/STAT in smooth muscle cells caused proliferation of adventitial fibroblast, deposition of collagen fibers and reinforcement of the tensile strength of aortic walls, thus preventing AD. In AD model, onset of AD was preceded by the activation of cell cycle, inflammatory response and suppression of smooth muscle cell-specific genes. Our findings indicate that JAK/STAT signaling is activated in AD and plays cell type-specific roles.

研究分野：分子循環器学

キーワード：大動脈 細胞外マトリックス 炎症 細胞間相互作用

1. 研究開始当初の背景

大動脈解離は大動脈瘤と並ぶ成人大動脈疾患の双璧で、突然の中膜破断に続いて壁が長軸方向に解離する原因不明の疾患である解離の分子病態は不明なため、発症や予後の予測は困難で進行を阻止する治療法も確立していない。

申請者らは大動脈疾患の病態解明に取り組む中で、一見正常な中膜の破断というヒト解離の特徴を再現し、分子的定義が明確な世界初の解離モデルを開発した。

2. 研究の目的

本研究では、申請者が開発したモデルを用いて大動脈解離病態の根幹を明らかにすることを目標とした。具体的にはマクロファージと平滑筋細胞の相互作用による組織強度制御機構の解明および IL-6 シグナルの役割解明を目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、解離病態におけるマクロファージの機能分化を中心に研究を進めた。さらに、炎症応答におけるマクロファージと平滑筋の相互作用の解明を進めた。マウスで得られた知見とヒト病態の関連を明らかにするために、ヒト解離組織における IL-6 シグナルを解析した。

4. 研究成果

マクロファージ IL-6 シグナルの役割

マクロファージ特異的に SOCS3 をノックアウトすることで IL-6 系シグナル活性化マウスを作成した (mSOCS3-KO)。野生型 (WT) および mSOCS3-KO マウスに大動脈硬化 (腹部動脈周囲への塩化カルシウム塗布) と高血圧 (アンジオテンシン II の持続投与) 負荷を加えた。WT、mSOCS3-KO ともに1週間の負荷では腹腔動脈分岐部に 200 μ m 程度の中膜断裂とマクロファージ浸潤を伴う血管傷害を認めた。負荷後6週間で WT では血管傷害部位の線維性治癒を認めたが、mSOCS3-KO では大動脈解離を認めた。このことから、マクロファージ IL-6 系シグナルはストレスによる血管傷害発生には寄与しないが、血管傷害部位の破壊進展に寄与し解離発症を促進することが明らかになった。解離発症前に予測解離部位組織を採取しトランスクリプトーム解析を行ったところ、ストレス早期に細胞増殖応答が起こり、その後に炎症応答と平滑筋特異的遺伝子群の発現抑制が起こることが示された。同時期に解離予測部位の細胞を単離し CD45⁺ Ly6G⁻ CD11b⁺ マクロファージの活性を Ly6C で検討した。WT マウス大動脈では炎症性 M1 マクロファージ (Ly6C^{hi}) と抗炎症性 M2 マクロファージ (Ly6C^{lo}) の比率は 1:1 であったが、mSOCS3-KO では M1:M2 比は 2:1 で破壊性応答の亢進を認めた。

平滑筋細胞 IL-6 シグナルの役割

解離モデルにおいて解離予測部位の IL-6 系シグナル活性 (STAT3 リン酸化) を検討したところ、解離発症前からマクロファージを主体とする外膜炎細胞および血管平滑筋細胞で活性化を認めた。血管平滑筋細胞における IL-6 系シグナルの役割を検討するために、平滑筋細胞特異的 SOCS3 ノックアウトマウス (smSOCS3-KO) を作成した。WT と smSOCS3-KO に解離誘発刺激を加えたところで、WT と比較して smSOCS3-KO では大動脈解離の発症が抑制されていた。解離発症前の組織を解析したところ、smSOCS3-KO では線維芽細胞を主体とする外膜細胞の増殖とコラーゲン線維の蓄積が認められた。大動脈を単離し、新規に開発した組織破断張力試験機で組織強度を測定したところ、smSOCS3-KO では大動脈壁強度が WT より亢進していた。血管平滑筋細胞の IL-6 系シグナルは、線維芽細胞の増殖、コラーゲン線維の沈着を促進し、大動脈壁強化に寄与していることが示された。

ヒト大動脈解離組織の観察

ヒト解離組織において定量的蛍光免疫染色法によりマクロファージの分布および STAT3 活性化を観察し、組織像および病理組織像との対応を解析した。大動脈組織のうち解離が及んでいない部分でも中膜の外側 1/4 では STAT3 の活性化を認め、さらに外膜と接する部分の中膜および外膜にはマクロファージ浸潤を認めた。STAT3 活性化は中膜平滑筋細胞およびマクロファージの双方に認められた。一方、中膜の内腔側 3/4 には STAT3 活性化やマクロファージ浸潤を認めなかった。解離が及んでいる部分では中膜外側 1/4 および外膜の STAT3 活性化およびマクロファージ浸潤は非解離部分よりさらに高度であったが、中膜の内腔側 3/4 ではなお STAT3 活性化やマクロファージ浸潤を認めなかった。これらのことから、ヒト解離組織でもマウスモデルと同様に解離に先立ち血管平滑筋細胞の STAT3 活性化、マクロファージ浸潤、マクロファージ STAT3 活性化が起こり、これらの変化は主に外側中膜および外膜で起こることが明らかになった。以上の変化はマウスモデルの病理像と良く対応していた。

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 13 件)

1. 青木浩樹. 大動脈瘤の成因と分子病態. *Int J Thromb*. 2014;9:74-79 査読無
2. Yokoyama U, Minamisawa S, Shioda A, Ishiwata R, Jin MH, Masuda M, Asou T, Sugimoto Y, Aoki H, Nakamura T, Ishikawa Y. Prostaglandin E2 Inhibits Elastogenesis in the Ductus Arteriosus

- via EP4 Signaling. *Circulation*. 2014;129:487-496 査読有
3. Kimura T, Shiraishi K, Furusho A, Ito S, Hirakata S, Nishida N, Yoshimura K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Ikeda Y, Miyamoto T, Ueno T, Hamano K, Hiroe M, Aonuma K, Matsuzaki M, Imaizumi T, Aoki H. Tenascin C protects aorta from acute dissection in mice. *Sci Rep*. 2014;4:4051 査読有
 4. Kajimoto H, Kai H, Aoki H, Uchiwa H, Aoki Y, Yasuoka S, Anegawa T, Mishina Y, Suzuki A, Fukumoto Y, Imaizumi T. BMP type I receptor inhibition attenuates endothelial dysfunction in mice with chronic kidney disease. *Kidney international*. 2014;87:128-136 査読有
 5. 青木浩樹. 大動脈瘤の薬物療法とスタンチンへの期待. *Vascular Medicine*. 2012;8:168-171 査読無
 6. 青木浩樹. 大動脈瘤の分子機序と治療ターゲット. *Cardiovascular Frontier*. 2012;3:296-300 査読無
 7. 青木浩樹. 大動脈瘤の分子機序. *Heart View*. 2012;16:46-51 査読無
 8. Yoshimura K, Aoki H. Recent advances in pharmacotherapy development for abdominal aortic aneurysm. *Int J Vasc Med*. 2012;648167 査読有
 9. Yokoyama U, Ishiwata R, Jin MH, Kato Y, Suzuki O, Jin H, Ichikawa Y, Kumagaya S, Katayama Y, Fujita T, Okumura S, Sato M, Sugimoto Y, Aoki H, Suzuki S, Masuda M, Minamisawa S, Ishikawa Y. Inhibition of EP4 signaling attenuates aortic aneurysm formation. *PLoS One*. 2012;7:e36724 査読有
 10. Tazume H, Miyata K, Tian Z, Endo M, Horiguchi H, Takahashi O, Horio E, Tsukano H, Kadomatsu T, Nakashima Y, Kunitomo R, Kaneko Y, Moriyama S, Sakaguchi H, Okamoto K, Hara M, Yoshinaga T, Yoshimura K, Aoki H, Araki K, Hao H, Kawasuji M, Oike Y. Macrophage-derived angiotensin-like protein 2 accelerates development of abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32:1400-1409 査読有
 11. Ohmura H, Yasukawa H, Minami T, Sugi Y, Oba T, Nagata T, Kyogoku S, Ohshima H, Aoki H, Imaizumi T. Cardiomyocyte-specific transgenic expression of lysyl oxidase-like protein-1 induces cardiac hypertrophy in mice. *Hypertens Res*. 2012;35:1063-1068 査読有
 12. Miyazaki Y, Ikeda Y, Shiraishi K, Fujimoto SN, Aoyama H, Yoshimura K, Inui M, Hoshijima M, Kasahara H, Aoki H, Matsuzaki M. Heart failure-inducible gene therapy targeting protein phosphatase 1 prevents progressive left ventricular remodeling. *PLoS One*. 2012;7:e35875 査読有
 13. Kajimoto H, Kai H, Aoki H, Yasuoka S, Anegawa T, Aoki Y, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Inhibition of eNOS phosphorylation mediates endothelial dysfunction in renal failure: new effect of asymmetric dimethylarginine. *Kidney international*. 2012;81:762-768 査読有
- [学会発表] (計 25 件)
- 1 第 31 回国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会 (2014 年 11 月 28~29 日:名古屋 Symposium 3 : Translational Research in Vascular Medicine H Aoki : Molecular pathogenesis of aortic dissection: The failure of protective mechanism of aortic walls.
 - 2 第 31 回国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会 (2014 年 11 月 28~29 日:名古屋) A Furusho, H Aoki, M Nishihara, S Ohno, S Hirakata, N Nishida, S Itou, Y Fukumoto ; B cells Promote the Development of Abdominal Aortic Aneurysm through a proinflammatory response.
 - 3 第 31 回国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会 (2014 年 11 月 28~29 日:名古屋) S Ohno, H Aoki, M Nishihara, A Furusho, S Hirakata, N Nishida, S Itou, M Hayashi, Y Fukumoto ; Involvement of Macrophage IL-6 Signaling in Aortic Dissection.
 - 4 第 31 回国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会 (2014 年 11 月 28~29 日:名古屋) N Nishida, H Aoki, S Ohno, M Nishihara, A Furusho, S Hirakata, M Hayashi, S Itou, H Yasukawa, Y Fukumoto ; Excessive Sodium Intake Exacerbates Acute Aortic Dissection through Proinflammatory IL-17 Pathway.
 - 5 American Heart Association Scientific Sessions 2014, Chicago, IL, USA, November 15 - 19, 2014 S Hirakata, H Aoki, M Nishihara, S Ohno, A Furusho, N Nishida, S Itou, Y Fukumoto ; Protective Role of Stat3 in Vascular Smooth Muscle Cells During the Development of Acute Aortic Dissection.

- 6 American Heart Association Scientific Sessions 2014, Chicago, IL, USA, November 15 – 19, 2014
S Ohno, H Aoki, M Nishihara, A Furusho, S Hirakata, N Nishida, S Itou, H Yasukawa, Y Fukumoto ; A Common Gene Network Governs The Cellular Phenotypes in Aortic Dissection.
- 7 ESC Congress 2014, Barcelona, Spain, Augst 30 – September 3, 2014
A Furusho, H Aoki, M Nishihara, S Ohno, S Hirakata, N Nishida, S Itou, Y Fukumoto ; The role of B cells in pathogenesis of abdominal aortic aneurysm.
- 8 ESC Congress 2014, Barcelona, Spain, Augst 30 – September 3, 2014
S Ohno, H Aoki, M Nishihara, A Furusho, S Hirakata, N Nishida, S Ito, H Yasukawa, Y Fukumoto ; Molecular determinant of the development of acute aortic dissection.
- 9 The 18th International Vascular Biology Meeting, Kyoto, Japan, April 14–17, 2014
S Ohno, H Aoki, M Nishihara, A Furusho, S Hirakata, N Nishida, S Itou, H Yasukawa, Y Fukumoto ; Involvement of Macrophage Cytokine Signaling in Acute Aortic Dissection.
- 10 The 18th International Vascular Biology Meeting, Kyoto, Japan, April 14–17, 2014
A Furusho, H Aoki, M Nishihara, S Ohno, S Hirakata, N Nishida, S Itou, Y Fukumoto ; Involvement of B cells in Pathogenesis of Abdominal Aortic Aneurysm.
- 11 The 18th International Vascular Biology Meeting, Kyoto, Japan, April 14–17, 2014
H Aoki, Kimura T, Yoshimura K, Shiraishi K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Ikeda Y, Miyamoto T, Ueno T, Fukumoto Y ; Tenascin C protects aorta from acute dissection in mice
- 12 The 18th International Vascular Biology Meeting, Kyoto, Japan, April 14–17, 2014
Batmunkh B, Kokubo H, Kamata R, Fujii M, H Aoki, Ishida M, Ishita T, Yoshizumi M ; Induction of Timp1 in Smooth Muscle Cells during Development of Abdominal Aortic Aneurysms.
- 13 第78回日本循環器学会学術集会(2014年3月21～23日:東京)
Topic 8 "Hypoxia and Metabolic Signaling Pathways in Chronic Inflammation and Tissue Remodeling"
H Aoki ; Inflammation and Tissue Remodeling in Aortic Diseases
- 14 第78回日本循環器学会学術集会(2014年3月21～23日:東京)
S Ohno, H Aoki, M Nishihara, A Furusho, S Hirakata, N Nishida, S Itou, H Yasukawa, Y Fukumoto ; Macrophage Cytokine Signaling Determines the Development of Acute Aortic Dissection.
- 15 第78回日本循環器学会学術集会(2014年3月21～23日:東京)
A Furusho, H Aoki, M Nishihara, S Ohno, S Hirakata, N Nishida, S Itou, Y Fukumoto ; B cell Promotes the Development of Abdominal Aortic Aneurysm.
- 16 第91回日本生理学会大会(2014年3月16～18日:鹿児島)
Symposium "Regulatory logic of stress response in blood vessels"
H Aoki : Hemodynamic stress on aortic walls : adaptation and maladaptation
- 17 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.
- 18 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.
- 19 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: シンポジウム「大動脈疾患における danger signal と炎症」企画・座長
- 20 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.
- 21 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
- 22 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.
- 23 American Society for Cell Biology 2012 Annual Meeting, San Francisco, CA, USA, December 15-19, 2012
H Aoki, 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.
- 24 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, H Aoki, 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)
- 25 第 49 回日本臨床分子医学会学術集会(2012 年 4 月 13 日 - 14 日;京都)
大野聡子, 青木浩樹他; 大動脈瘤と大動脈解離における STAT3 経路の役割

[図書] (計 1 件)

1. 青木浩樹. 大動脈解離 の病因・病態生理. In: 鈴木亨, 永井良三, eds. 新しい診断と治療の ABC 大動脈瘤・大動脈解離 改訂第 2 版. 大阪: 最新医学社; 2013:42-50. 査読無

[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 :
出願年月日 :
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
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)
山口大学大学院・医学系研究科・准教授 (特命)
研究者番号 : 00322248

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

田中 啓之 (TANAKA, Hiroyuki)
久留米大学・医学部・教授
研究者番号 : 70197466

(3) 連携研究者 ()

研究者番号 :