

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293184

研究課題名(和文) 動脈壁と周囲脂肪組織における慢性炎症の可視化と病態解明

研究課題名(英文) Visualization of chronic inflammation in arterial wall and perivascular adipose tissue

研究代表者

佐田 政隆 (SATA, Masataka)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号：80345214

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：慢性炎症の起点となるインフラマソームの活性化をCaspase1活性をFRETを用いて評価する系の確立を試みたが困難を極めた。また他のグループから、当初の計画では低強度の慢性炎症を可視化することが不可能であることが報告された。そこで、慢性炎症の機序を明らかにすることにした。肥大化によって変性した脂肪細胞から遊離したDNA断片が病原体センサーを活性化することで、無菌的慢性炎症の契機となるという仮説を、遺伝子改変マウスやオリゴヌクレオチドを用いた実験で証明した。変性脂肪細胞から遊離するDNA断片が、TLR9を介してマクロファージを活性化することで脂肪組織の慢性炎症を引き起こすことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Chronic inflammation closely associates with insulin resistance. TLR9 recognizes bacterial unmethylated DNA, although it can also provoke inflammation in response to fragmented DNA from mammalian cells. The role of TLR9 in the development of insulin resistance, however, remains unknown. This study tested the hypothesis that TLR9 signal promotes inflammation in metabolic organs and causes insulin resistance in high-fat fed mice. GTT and ITT demonstrated that disruption of TLR9 improved insulin resistance. TLR9 KO mice had less macrophage infiltration and MCP-1 expression in fat tissue. In vitro experiments showed that CpG ODN, synthetic oligonucleotides that contain unmethylated CpG, can promote the expression of pro-inflammatory molecules in WT macrophages, but not in TLR9 KO macrophages. Our results suggested that genetic ablation of TLR9 improved insulin resistance through the inhibition of inflammatory responses in fat tissue caused by accumulation and activation of macrophages.

研究分野：循環器内科学

キーワード：動脈硬化 慢性炎症 メタボリックシンドローム インスリン抵抗性 肥満 自然免疫

1. 研究開始当初の背景

(1) 動脈硬化巢に、マクロファージ、T細胞、肥満細胞が浸潤していることが報告され、動脈硬化は慢性炎症疾患であるという概念が確立している (N Eng J Med 1999; 340:115-126)。また、動脈硬化巢内の血管内皮細胞や血管平滑筋細胞、さらには集積したマクロファージがアポトーシスやピロトーシス (pyroptosis)、ネクローシスを起こしており、動脈硬化の進展に関与することが示唆されている (ATVB. 1998;18:1519.)。しかし、血管内細胞死の病的・生理的意義や、生活習慣病によって、どのようにして血管で無菌的慢性炎症が惹起されるのか不明な点が多い。

(2) 一方、肥満に伴うインスリン抵抗性が、脂肪組織における慢性炎症を基盤として引き起こされることが近年報告され、大きな関心がもたれている (J Clin Invest. 2003; 112:1821. J Clin Invest. 2003; 112:1796.)。即ち、脂肪細胞の大型化に伴いマクロファージなど各種炎症細胞が浸潤し、脂肪細胞と炎症細胞が相互に活性化する vicious cycle が引き起こされることが知られている。近年、**Crown-like structure** と呼ばれる細胞死を起こした脂肪細胞の周りをマクロファージが取り囲む構造物の存在が報告された。しかし、肥大化した脂肪細胞がどのようにして炎症細胞を脂肪組織にリクルートするのかについて不明な点が多い。

(3) 最近、アポトーシスやピロトーシス、ネクローシスといった細胞死により、自己由来遊離核酸断片 (cell free DNA, cfDNA) が放出され、炎症を惹起する一因になるのではないかと推測されている (J Thromb Haemost. 2015;13 Suppl 1:S82.)。Toll-like receptor 9 (TLR9) は、細菌、ウイルス由来の非メチル化 CpG DNA を認識し、細菌、ウイルスからの防御反応に重要な、自然免疫系病原体センサーの一つとして知られている。TLR9 は自己由来 cfDNA も認識し炎症を惹起することが報告され (Immunol Rev. 2008;223:271)、cfDNA が自己免疫性疾患の病態に重要な役割を担うことが示唆されている (Eur J Clin Invest. 2011;41:579)。また、冠動脈疾患患者で血中 cfDNA が高値であり、血栓形成の促進に関与している可能性が報告されている (ATVB. 2013;33:2032.)。

(4) 申請者らは、冠動脈疾患患者の手術標本、血清を解析して、動脈硬化病変ならびに心臓周囲脂肪組織に、活性化マクロファージが浸潤し、各種 TLR などの自然免疫系病原体センサーを発現していることを見出した (J Am Coll Cardiol. 2011; 58:248-255)。また、心臓周囲脂肪組織の炎症が、**Vasa Vasorum** と呼ばれる病的新生血管を介して、動脈硬化の病態に関与していることを示した (Circ J. 79: 1211, 2015)。血管周囲脂肪組織における炎症が、動脈壁における炎症に直結するという概念を提唱して、世界的に高い評価を得て、多くの review articles を執筆している。

2. 研究の目的

(1) まず、動物モデルを用いて、血管壁における慢性炎症の病態を形態学的ならびに分子生物学的に解析する。次に、生活習慣病で血管や血管周囲に蓄積される遊離脂肪酸、コレステロール結晶によってインフラマソームが活性化され、炎症が惹起される過程を可視化する試みを行う。Caspase 1 活性を可視化するコンストラクトを作製し、*in vitro* ならびに *in vivo* でイメージングを行う。さらに、動物実験で得られた成果の臨床的意義を、臨床材料を用いて検討する。以上の基礎的、臨床的検討から、動脈硬化進展を検出する画像診断、バイオマーカーの確立を目指し、診断法、治療法の開発に役立てる。

(2) 生活習慣病によって慢性炎症が惹起される機序の解明を目指す。特に、生活習慣病によって誘導される細胞死と慢性炎症の関連を検討する。過食、脂質異常症や高血糖により、血管細胞や脂肪細胞に細胞死が誘導される現象を観察し、そこから放出される核酸や脂肪酸などの物質に注目する。細胞実験や遺伝子改変マウスを用いた実験により、死細胞が炎症細胞を活性化する分子機序を明らかにする。特に、cfDNA に注目して、どのようにして、血管や脂肪組織に誘発される慢性炎症の原因になっているかを明らかにする。また、慢性炎症を可視化するマウスを作製して、細胞死と慢性炎症の関連を詳細に検討する。そして、実験で得られた結果の臨床的意義を臨床サンプルを用いて検討する。さらには、細胞死を抑制したり、鍵となる分子を阻害することで生活習慣病による脂肪組織や動脈壁における慢性炎症を制御する新規治療法の開発を図る。

3. 研究の方法

(1) 生活習慣病によって慢性炎症がおこる過程の可視化

インフラマソームは尿酸や ATP などで活性化される。そこで、FRET (蛍光共鳴エネルギー移動) を用いてインフラマソーム活性を可視化するトランスジェニックマウスの作製を目指す。このマウスを用いて、死細胞から放出される物質で慢性炎症が惹起される過程を検討する。このマウスでは、インフラマソーム活性化を ICE (Interleukin-1 β 変換酵素) 活性で可視化する。すなわち、青色蛍光タンパク CFP と黄色蛍光タンパク YFP を ICE 認識配列である Y E V D G W というアミノ酸配列を含んだリンカーによって結合したコンストラクトを発現し、440nm 光で励起すると CFP から YFP に FRET が生じ黄色蛍光を発する。一方、ICE 活性が亢進するとリンカーが切断され FRET が生じず青色蛍光を発する。この FRET コンストラクトの作製に成功して、ICE 特異的に活性化して、蛍光変化を検出することが可能であることを確認する。In vitro で有効性が確認されたコンストラクトを受精卵にマイクロインジェクションして、トランスジェ

ニックマウスを樹立する。

死細胞から放出され、臨床サンプルの解析から免疫惹起物質の候補としてあげられた cfDNA、脂肪酸、ATP、尿酸、コレステロール結晶などを、このトランスジェニックマウスの静脈内や局所に投与して、インフラマソームの活性化を二光子顕微鏡下に、生体内でリアルタイムに観察する。

(2) 肥満によって脂肪組織で慢性炎症が生じる機序の解析

野生型マウスと TLR9 欠損マウスに、生後 8 週から高脂肪高スクロース食を 12 週間投与する。12, 16, 20 週齢において、経口ブドウ糖負荷ならびに腹腔内インスリン負荷を行い、インスリン抵抗性の推移を検討する。20 週齢において、皮下ならびに内臓脂肪組織、血液を採取する。免疫組織学的手法を用いて、脂肪細胞死、マクロファージ浸潤の多寡や活性化の程度を比較する。また、抗ペリリン染色や TUNEL 染色を行い、脂肪細胞ならびに浸潤した炎症細胞の傷害度とアポトーシスを評価する。さらには、二重鎖 DNA や一重鎖 DNA に対する抗体を用いた免疫電子顕微鏡を行い、脂肪細胞の死、マクロファージの浸潤、cfDNA の局在を観察する。さらに、炎症惹起物質としての cfDNA の血中濃度を測定する。

次に、cfDNA が慢性炎症を惹起する標的となる細胞を明らかにするために、野生型マウス (WT) と TLR9 欠損マウス (TLR9KO) 間で骨髄移植を行う。4 週齢において 9Gy の X 線照射を行い、①WT→WT, ②TLR9KO→WT, ③WT→TLR9KO, ④TLR9KO→TLR9KO の骨髄移植を行う。8 週齢から高脂肪高スクロース食を開始して、インスリン抵抗性、脂肪細胞での慢性炎症における、骨髄細胞の TLR9 の役割を明らかにする。骨髄置換率は、異性間の骨髄移植で、末梢白血球の X、Y 染色体への FISH を行い決定する。

さらに、cfDNA によるマクロファージ活性化の作用機序の解明を図る。刺激を受けたり細胞死に至った脂肪細胞から放出された cfDNA がマクロファージを活性化する機序を検討する。3T3L1 脂肪細胞を低酸素、過酸化水素、TNF α 、Angiotensin II などを用いて細胞死を誘導して、培養上清を採取する。また、培養上清を野生型もしくは TLR9 欠損マウス由来マクロファージに添加して、活性化状態を NF κ B やサイトカインの発現で検討する。また、TLR9 に対する inhibitory オリゴヌクレオチドを投与して、cfDNA/TLR9 系の役割を検討する。

同様に、培養血管内皮細胞や平滑筋細胞を刺激して培養上清の炎症惹起性を検討する。濃度が薄い場合はカラムを用いて cfDNA を濃縮する。上清中のアポトーシス小体や cell free DNA (cfDNA) などの炎症惹起因子の候補となる分子を定量化する。cfDNA の配列やメチル化の程度など性状を検討する。

4. 研究成果

(1) 生活習慣病によって慢性炎症がおこる過程の可視化の試み

慢性炎症の起点となるインフラマソームの活性化を Caspase1 活性 で評価する系の確立を目指した。具体的には、青色蛍光タンパク CFP と黄色蛍光タンパク YFP を Caspase1 の認識配列であるアミノ酸配列 YEVDGW を含んだリンカーによって結合した FRET コンストラクトを作成し、大腸菌に発現させた遺伝子組み換えタンパクを用いて、in vitro 実験を繰り返した。YEVDGW 配列を三個含むコンストラクトの感度が最良だったが、特異性に問題があった。そこでリンカーを YVADGP に変更し、Caspase1 特異性を確認できた。このコンストラクトを発現する Stable cell line を PMA, LPS, Nigericin で刺激すると IL-1 β は培地中に大量分泌されたが、コンストラクトタンパクは切断されていないことが判明した。そこで方針を一大転換し、proIL-1 β をセンサーにして、切断をうけると蛍光物質 cp173Venus が核に移行するようなコンストラクトを作製した。しかし、このコントラストを強制発現させるだけで、無刺激下においても細胞毒性があることが判明した。そのため、pro-IL1 β の生理活性を欠損させて、インフラマソーム結合能だけあるコンストラクトを各種作製したところ、N27-N116 までに毒性部位があることが判明した。切断部位は N27 と N116 であるため、毒性を欠如したコンストラクトでは、pro-IL1 β をセンサーに使用できないことが判明した。そこで、doxycycline により発現を誘導することが可能な pTetOne Vector にコンストラクトをサブクローニングし、マクロファージ系 Cell line RAW264.7 細胞にトランスフェクションして、stable cell line を樹立しようとした。しかしその時、東京大学薬学部のグループから、Caspase-1 が活性化した細胞はアポトーシスを生じて死亡するという論文が出版された (Liu et al. Cell Rep. 2014;8:974-982.)。当初、予定して低強度の Caspase1 の活性化を可視化することが不可能であることが判明したため、本プロジェクトは中断せざるを得なかった。

(2) 肥満によって脂肪組織で無菌的慢性炎症が生じる機序の解析

そこで、方向転換して、肥満によって脂肪組織で慢性炎症が惹起されるメカニズムの解明に取り組むことにした。

脂肪組織におけるマクロファージを中心とした慢性炎症が、インスリン抵抗性の発症要因であるが、その機序は十分に明らかになっていない。近年、肥大化した脂肪細胞の細胞死が、脂肪組織の炎症に関与する事が明らかになってきた。細胞死により、脂肪細胞からは核酸が遊離する。Toll 様受容体-9 (TLR9) は外因性 DNA だけでなく、自己 DNA 断片をも認識し、炎症性疾患に関与する。そこで障害を受けた脂肪細胞から遊離した DNA がマクロ

ファージ TLR9 を活性化し、脂肪組織の炎症に関与するという仮説をたて、検証した。

高脂肪食負荷 (HFD) 下の肥満野生型 (WT) マウスは、非肥満マウスに比べて、血漿中の ssDNA などの遊離核酸量が有意に多かった。障害脂肪細胞とマクロファージの相互作用に TLR9 が関与するかどうかを検討するため、WT と TLR9 欠損マウス (TLR9KO) から単離したマクロファージを、TNF- α の存在下で培養した脂肪細胞の培養上清で刺激したところ、WT マクロファージにおいて、MCP-1 の発現が有意に増加した。培養上清から抽出した遊離核酸も、WT マクロファージからの MCP-1 の発現を増加させた。生体内における TLR9 の役割を検討するため、TLR9KO マウスと WT マウスに HFD を行ったところ、内臓脂肪重量には差を認めなかったが、TLR9KO マウスでは、脂肪組織におけるインスリン感受性遺伝子の発現が高く、逆に炎症の程度は低かった。また、TLR9KO マウスは WT マウスに比べて、インスリン感受性が高かった。さらに TLR9 特異的阻害オリゴヌクレオチドの投与は、HFD 下の WT マウスのインスリン感受性を改善させた。以上より、肥大化した脂肪細胞の細胞死は、遊離核酸を増加させ、マクロファージ TLR9 を活性化させることで、脂肪組織の慢性炎症を惹起し、インスリン抵抗性の発症に関与することが明らかとなった。

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 106 件)

1. Torii Y, Kusunose K, Yamada H, Nishio S, Hirata Y, Amano R, Yamao M, Bando M, Hayashi S, Sata M: Comparison of tricuspid annular plane systolic excursion in patients with atrial fibrillation vs sinus rhythm. *Am J Cardiol.* 117(2), 226-232, 2016 doi: 10.1016/j.amjcard.2015.10.035 査読有
2. Niki T, Wakatsuki T, Yamaguchi K, Taketani Y, Oeduka H, Kusunose K, Ise T, Iwase T, Yamada H, Soeki T, Sata M: Effects of the addition of eicosapentaenoic acid to strong statin therapy on inflammatory cytokines and coronary plaque components assessed by integrated backscatter intravascular ultrasound. *Circ J.* 80(2), 450-460, 2016 doi: 10.1253/circj.CJ-15-0813 査読有
3. Shimabukuro M, Saito T, Masuzaki H, Sata M: Screening of coronary artery disease in diabetic patients: who and how? – reply – *Circ J.* 80(2), 544, 2016 doi: 10.1253/circj.CJ-15-1377 査読有
4. Takashima A, Yagi S, Yamaguchi K, Takagi E, Kanbara T, Ogawa H, Ise T, Kusunose K, Tobiume T, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Kitagawa T, Sata M: Vegetation in the coronary sinus that concealed the presence of a coronary arteriovenous fistula in a patient with infectious endocarditis. *Int J Cardiol.* 207, 266-268, 2016 doi: 10.1016/j.ijcard.2016.01.057 査読有
5. Torii Y, Yamada H, Matsukuma S, Nishio S, Kusunose K, Abe M, Sata M: Left Ventricular lipomatous hamartoma mimicking a calcified amorphous tumor. *Circulation.* 133(8):e408-e410, 2016 doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.019252 査読有
6. Nishimoto S, Fukuda D, Higashikuni Y, Tanaka K, Hirata Y, Murata C, Kim-Kaneyama J, Sato F, Bando M, Yagi S, Soeki T, Hayashi T, Imoto I, Sakaue H, Shimabukuro M, Sata M: Obesity-induced DNA released from adipocytes stimulates chronic adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Sci Adv.* 2(3), e1501332, 2016 doi: 10.1126/sciadv.1501332 査読有
7. Kusunose K, Yamada H, Suzukawa R, Hirata Y, Yamao M, Ise T, Yagi S, Akaike M, Sata M: Effects of transthoracic echocardiographic simulator training on performance and satisfaction in medical students. *J Am Soc Echocardiogr.* 29(4), 375-377, 2016 doi: 10.1016/j.echo.2015.12.002 査読有
8. Kusunose K, Sato M, Yamada H, Saijo Y, Bando M, Hirata Y, Nishio S, Hayashi S, Sata M: Prognostic implications of non-invasive vascular function tests in high-risk atherosclerosis patients. *Circ J.* 80(4), 1034-1040, 2016 doi: 10.1253/circj.CJ-15-1356 査読有
9. Bando M, Yamada H, Kusunose K, Fukuda D, Amano R, Tamai R, Torii Y, Hirata Y, Nishio S, Satomi J, Nagahiro S, Sata M: Noninvasive quantitative tissue characterization of carotid plaque using color-coded mapping based on ultrasound integrated backscatter. *JACC Cardiovasc Imaging.* 9(5):625-627, 2016 doi: 10.1016/j.jcmg.2015.02.017 査読有
10. Soeki T, Yamaguchi K, Niki T, Uematsu E, Bando S, Matsuura T, Ise T, Kusunose K, Hotchi J, Tobiume T, Yagi S, Fukuda D, Taketani Y, Iwase T, Yamada H, Wakatsuki T, Shimabukuro M, Sata M: Plasma microRNA-100 is associated with coronary plaque vulnerability. *Circ J.* 79(2): 413-418, 2015 doi: 10.1253/circj.CJ-14-0958 査読有
11. Kusunose K, Hotchi J, Takagawa Y, Nishio S, Ise T, Tobiume T, Yamaguchi K, Yagi S, Iwase T, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Sata M: Serial imaging changes during treatment of Immunoglobulin G4-related disease with multiple pseudotumors. *Circulation.* 131(21):1882-1883, 2015 doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015638 査読有
12. Kusunose K, Yamada H, Hotchi J, Bando M, Nishio S, Hirata Y, Ise T, Yamaguchi K, Yagi S, Soeki T, Wakatsuki T, Kishi J, Sata M: Prediction of future overt pulmonary hypertension by six-minute walk stress

- echocardiography in connective tissue disease. *J Am Coll Cardiol.* 66(4): 376-384, 2015 doi: 10.1016/j.jacc.2015.05.032 査読有
13. Yamazaki H, Yamaguchi K, Soeki T, Wakatsuki T, Niki T, Taketani Y, Kitaoka A, Kusunose K, Ise T, Tobiume T, Yagi S, Iwase T, Yamada H, Sata M: Impact of indoxyl sulfate, a uremic toxin, on non-culprit coronary plaque composition assessed by integrated backscatter intravascular ultrasound. *Circ J.* 79:1773-1779, 2015 doi: 10.1253/circj.CJ-15-0019 査読有
 14. Hara T, Yagi S, Akaike M, Sata M: Transdermal patch of bisoprolol for the treatment of hypertension complicated with aortic dissection. *Int J Cardiol.* 198: 220-221, 2015 doi: 10.1016/j.ijcard.2015.06.112 査読有
 15. Shimabukuro M, Hasegawa Y, Higa M, Amano R, Yamada H, Mizushima S, Masuzaki H, Sata M: Subclinical carotid atherosclerosis burden in Japanese: comparison between Okinawa and Nagano residents. *J Atheroscler Thromb.* 22(8): 854-868, 2015 doi: 10.5551/jat.26674 査読有
 16. Bando S, Fukuda D, Soeki T, Nishimoto S, Uematsu E, Matsuura T, Ise T, Tobiume T, Yamaguchi K, Yagi S, Iwase T, Yamada H, Wakatsuki T, Shimabukuro M, Sata M: Expression of NLRP3 in subcutaneous adipose tissue is associated with coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 242(1): 407-414, 2015 doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.07.043 査読有
 17. Hara T, Fukuda D, Tanaka K, Higashikuni Y, Hirata Y, Yagi S, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Shimabukuro M, Sata M: Rivaroxaban, a novel oral anticoagulant, attenuates atherosclerotic plaque progression and destabilization in ApoE-deficient mice. *Atherosclerosis.* 242(2): 639-646, 2015 doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.03.023 査読有
 18. Hirata Y, Yamada H, Kusunose K, Iwase T, Nishio S, Hayashi S, Bando S, Amano R, Yamaguchi K, Soeki T, Wakatsuki T, Sata M: Clinical utility of measuring epicardial adipose tissue thickness with echocardiography using a high-frequency linear probe in patients with coronary artery disease. *J Am Soc Echocardiogr.* 28(10), 1240-1246, 2015 doi: 10.1016/j.echo.2015.07.006 査読有
 19. Shimabukuro M, Saito T, Higa T, Nakamura K, Masuzaki H, Sata M: Fukuoka diabetologists group: Risk stratification of coronary artery disease in asymptomatic diabetic subjects using multidetector computed tomography. *Circ J.* 79(11), 2422-2429, 2015 doi: 10.1253/circj.CJ-15-0325 査読有
 20. Sawada N, Yamada H, Kusunose K, Hayashi S, Iwase T, Sata M: 3D transthoracic echocardiography provides accurate cross-sectional area of the RV outflow tract. *JACC Cardiovasc Imaging.* 8(11), 1343-1345, 2015 doi: 10.1016/j.jcmg.2014.12.018 査読有
 21. Yamaguchi K, Wakatsuki T, Soeki T, Niki T, Taketani Y, Oeduka H, Kusunose K, Ise T, Iwase T, Yamada H, Sata M: Effects of telmisartan on inflammatory cytokines and the coronary plaque component as assessed on integrated backscatter intravascular ultrasound in hypertensive patients. *Circ J.* 78(1): 240-247, 2014 doi: 10.1253/circj.CJ-13-0741 査読有
 22. Sawada N, Jiang A, Takizawa F, Safdar A, Manika A, Tesmenitsky Y, Kang KT, Bischoff J, Kalwa H, Sartoretto JL, Kamei Y, Benjamin LE, Watada H, Ogawa Y, Higashikuni Y, Kessinger CW, Jaffer FA, Michel T, Sata M, Croce K, Tanaka R, Arany Z: Endothelial PGC-1 α mediates vascular dysfunction in diabetes. *Cell Metab.* 19(2): 246-258, 2014 doi: 10.1016/j.cmet.2013.12.014 査読有
 23. Kusunose K, Chono T, Tabata T, Yamada H, Sata M: Echocardiographic image tracker with a speckle adaptive noise reduction filter for the automatic measurement of the left atrial volume curve. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 15(5):509-514, 2014 doi: 10.1093/ehjci/jet196 査読有
 24. Hayashi S, Yamada H, Bando M, Hotchi J, Ise T, Yamaguchi K, Iwase T, Soeki T, Wakatsuki T, Tamaki T, Sata M: Augmentation index does not reflect the risk of coronary artery disease in elderly patients. *Circ J.* 78(5): 1176-1182, 2014 doi: 10.1253/circj.CJ-13-1422 査読有
 25. Bando S, Soeki T, Matsuura T, Niki T, Ise T, Yamaguchi K, Taketani Y, Iwase T, Yamada H, Wakatsuki T, Akaike M, Aiba T, Shimizu W, Sata M: Congenital long QT syndrome with compound mutations in the KCNH2 gene. *Heart Vessels.* 29(4): 554-559, 2014 doi: 10.1007/s00380-013-0406-2 査読有
 26. Yamada H, Kusunose K, Nishio S, Bando M, Hotchi J, Hayashi S, Ise T, Yagi S, Yamaguchi K, Iwase T, Soeki T, Wakatsuki T, Sata M: Pre-load stress echocardiography for predicting the prognosis in mild heart failure. *JACC Cardiovasc Imaging.* 7(7): 641-649, 2014 doi: 10.1016/j.jcmg.2014.04.009 査読有
 27. Takashima A, Ise T, Yagi S, Iwase T, Kimura S, Ueda Y, Nishikawa K, Ishii A, Niki T, Yamaguchi K, Taketani Y, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Katoh S, Akaike M, Sata M: Cardiac rehabilitation reduces serum levels of oxidized low-density lipoprotein. *Circ J.* 78(11): 2682-2687, 2014 doi: 10.1253/circj.CJ-14-0532 査読有
 28. Ishida M, Shimabukuro M, Yagi S, Nishimoto S, Kozuka C, Fukuda D, Soeki T, Masuzaki H, Tsutsui M, Sata M: MicroRNA-378 regulates adiponectin expression in adipose tissue: A new plausible mechanism. *PLoS One.* 9(11): e111537, 2014 doi: 10.1371/journal.pone.0111537 査読有

29. Shimabukuro M, Hirata Y, Tabata M, Dagvasumberel M, Sato H, Kurobe H, Fukuda D, Soeki T, Kitagawa T, Takanashi S, Sata M: Epicardial adipose tissue volume and adipocytokine imbalance are strongly linked to human coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 33(5): 1077-1084, 2013 doi:10.1161/ATVBAHA.112.300829 査読有
30. Yoshida S, Aihara KI, Ikeda Y, Sumitomo-Ueda Y, Uemoto R, Ishikawa K, Ise T, Yagi S, Iwase T, Mouri Y, Sakari M, Matsumoto T, Takeyama KI, Akaike M, Matsumoto M, Sata M, Walsh K, Kato S, Matsumoto T: Androgen receptor promotes sex-independent angiogenesis in response to ischemia and is required for activation of vascular endothelial growth factor receptor signaling. *Circulation.* 128(1): 60-71, 2013 doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA 査読有
31. Nakayama T, Kurobe H, Sugawara N, Kinoshita H, Higashida M, Matsuoka Y, Yoshida Y, Hirata Y, Sakata M, Maxfield MW, Shimabukuro M, Takahama Y, Sata M, Tamaki T, Kitagawa T, Tomita S: Role of macrophage-derived hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α as a mediator of vascular remodeling. *Cardiovasc Res.* 99(4): 705-715, 2013 doi: 10.1093/cvr/cvt146. 査読有
32. Tanaka K, Sata M: Blockade of cytidine triphosphate synthase regulates smooth muscle cell and endothelial cell proliferation differentially. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 33(10): 2286-2287, 2013 doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302315 査読有
33. Hirata Y, Kurobe H, Higashida M, Fukuda D, Shimabukuro M, Higashikuni Y, Kitagawa T, Sata M: HMGB1 plays a critical role in vascular inflammation and lesion formation via toll-like receptor 9. *Atherosclerosis.* 231(2): 227-233, 2013 doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.09.010 査読有
34. Sumi M, Tateishi N, Shibata H, Ohki T, Sata M: Quercetin glucosides promote ischemia-induced angiogenesis, but do not promote tumor growth. *Life Sciences.* 93(22): 814-819, 2013 doi:10.1016/j.lfs.2013.09.005 査読有
35. Higashikuni Y, Tanaka K, Kato M, Nureki O, Hirata Y, Nagai R, Komuro I, Sata M: Toll-like receptor-2 mediates adaptive cardiac hypertrophy in response to pressure overload through interleukin-1 β upregulation via nuclear factor κ B activation. *J Am Heart Assoc.* 2(6): e000267, 2013 doi: 10.1161/JAHA.113.000267. 査読有

[学会発表] (計 420 件)

1. Nishimoto S, Fukuda D, Higashikuni Y, Tanaka K, Hirata Y, Yagi S, Soeki T, Sakaue H, Shimabukuro M, Sata M. Toll-

like Receptor 9 Plays a Pivotal Role in Angiotensin II-induced Atherosclerosis. AHA Scientific Sessions 2015, Orlando, America, November 7-11, 2015

2. Nishimoto S, Fukuda D, Higashikuni Y, Tanaka K, Hirata Y, Yagi S, Soeki T, Sakaue H, Shimabukuro M, Sata M. The activation of toll-like receptor 9 deteriorates blood flow recovery after hind-limb ischemia. ESC Congress 2015, London, Aug 29- Sep 2, 2015

[図書] (計 15 件)

1. Sata M, Tanaka K, Fukuda D. Wire-mediated endovascular injury that induces rapid onset of medial cell apoptosis followed by reproducible neointimal hyperplasia. In Sata M ed. *Mouse Models of Vascular Diseases*. Springer Japan, Tokyo, 2016. pp. 3-20.

[その他]

ホームページ等

徳島大学大学院医歯薬学研究部循環器内科学・徳島大学病院循環器内科

<http://square.umin.ac.jp/~TOKUSHIM/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐田 政隆 (SATA, Masataka)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号：80345214

(2) 研究分担者

堀川 一樹 (HORIKAWA, Kazuki)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号：70420247

福田 大受 (FUKUDA, Daiju)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・特任講師

研究者番号：40637568

東邦 康智 (HIGASHIKUNI, Yasutomi)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10586481

(3) 連携研究者

里見 淳一郎 (SATOMI, Junichi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・准教授

研究者番号：10304510

中山 泰介 (NAKAYAMA, Taisuke)

徳島大学・病院・医員

研究者番号：80582791