

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08747

研究課題名(和文) 塩分応答性分子SIKを標的とした大動脈解離病態解明

研究課題名(英文) The role of salt-inducible kinase(SIK) in aortic dissection

研究代表者

西田 憲史(Nishida, Norifumi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：50624508

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：培養血管平滑筋細胞において塩分過剰はSIK1、3の発現を亢進し、その下流シグナルのHDAC4のリン酸化を亢進させた。このことから塩分過剰はSIK経路を活性化することが示唆された。また、SIK阻害薬はTGF経路を抑制し、収縮型血管平滑筋及び分泌型血管平滑筋のマーカー分子のいずれもを亢進していた。これらの結果から、SIKは血管平滑筋細胞におけるECM代謝及び血管平滑筋分化において重要な役割を担っている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大動脈解離は最近増加傾向にある致死性疾患である。本邦において社会的責任が大きくなる50歳以上の男性に多く発症することから、社会的な影響も大きい。現在外科的加療もしくは降圧加療のみしか治療がなく、大動脈解離病態の解明は、新たな治療ターゲットにつながることを期待される。本研究でSIKが大動脈解離病態に大きく関与している可能性を示すことができた。更なる役割解明が新たな治療法確立への一歩となることを期待される。

研究成果の概要(英文)：In this project, we investigated the role of Salt-inducible kinase(SIK) in the pathology of aortic dissection. In vitro, excessive NaCl promoted the expression of SIK1, SIK3, and induced the phosphorylation of HDAC4, the down stream molecule of SIK pathway in vascular smooth muscle cells. These data suggested that excess salt activates the SIK pathway. In addition, SIK inhibitors suppressed the TGF pathway and enhanced both contractile vascular smooth muscle and secretory vascular smooth muscle markers. These results suggested that SIK may play an important role in ECM metabolism and vascular smooth muscle differentiation in vascular smooth muscle cells.

研究分野：大動脈解離病態

キーワード：大動脈解離 塩分負荷 細胞外マトリックス SIK

1. 研究開始当初の背景

【臨床的背景】

大動脈解離は大動脈中膜が突然断裂する致死性疾患で、近年増加しつつある。一旦発症すると手術、安静、降圧療法以外に打つ手がない。手術が施行されても遠位部に解離を残し、組織破壊の進行による解離部の瘤化、破裂、種々の臓器合併症が予後を悪化させる。

【学術的背景】

近年の研究から解離病態への炎症応答や ECM 代謝異常の関与が解き明かされつつあるが (Tieu, J Clin Invest 2009, Kurihara, Circulation 2012 他)、解離発症・増悪の機転は依然として不明である。塩分過剰は心血管イベントの危険因子である。申請者はこの点に着目して解離病態の解明に取り組み (H28-H29 若手研究 B)、解離の進行を定量的に観察するためにアンジオテンシン II (AmlgII) と BAPN (コラーゲン架橋酵素阻害薬) を浸透圧ポンプで投与するマウスモデルを開発した (図 1)。このモデルにおいて塩分過剰が IL-17 を介して ECM 合成を抑制し解離を増悪させることを発見した (図 2. ESC 2015-2017, AHA2015, JCS2015-2017)。しかし IL-17 阻害薬は免疫への影響のため解離に直ちに応用することは困難で、IL-17 による ECM 合成抑制のメカニズムも不明である。また、塩分過剰による炎症応答の一部は IL-17 に依存しないことも示された。更なる解離増悪のメカニズム解明による効果的な解離抑制療法の開発が急務である。最近、塩分過剰が炎症性疾患や腫瘍性疾患を増悪させることが示され、そのメカニズムとして Salt-Inducible Kinase (SIK) が注目を集めている。SIK の既知の機能から、解離病態を制御する可能性が高いことに申請者は気づいた。

正常 3日目 7日目 14日目



図 1. マウス解離モデル (自験) 矢印は解離部位を示す。

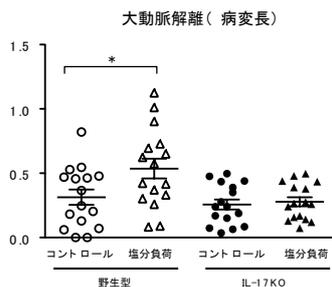


図 2. 塩分過剰による解離増悪と IL-17 の関与 (自験)

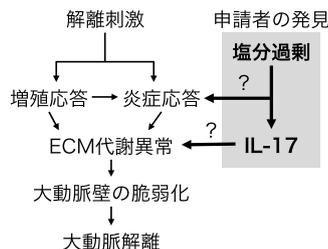


図 3. 本研究における病態仮説

SIK には3つのアイソフォームがあり、発現や機能にそれぞれ特徴がある (図 4)。申請者の予備検討によると、マウス解離モデルにおいて大動脈における SIK ファミリー遺伝子の発現は塩分過剰や解離刺激でアイソフォーム毎に特有の変化を示した (図 5)。この結果は SIK が解離病態に関与するとの仮説を支持する。

	発現制御	塩分過剰における機能
SIK1	塩分過剰で発現主に副腎	TGFβ抑制、ECM合成抑制 Bertorello, Circ Res 2015
SIK2	塩分過剰で発現主に脂肪組織	心肥大促進、増殖促進 Popov, PLoS One 2014 Bon, Mol Cancer Res 2015
SIK3	塩分過剰とIL-17で発現多くの組織	増殖促進、炎症促進、ECM破壊 Amara, PLoS One 2017 Charoenfuprasert, Oncogene 2011 Darling, Biochem J 2017



図 4. (上) SIK アイソフォームの既知の機能 (下) 解離において想定される SIK の機能

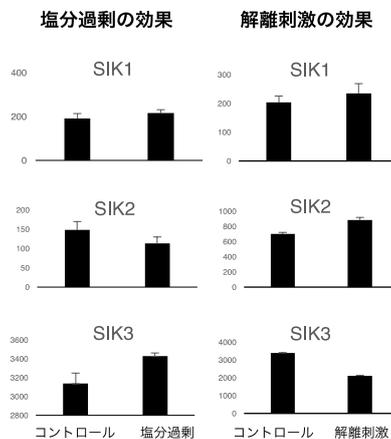


図 5. 解離モデルにおける SIK アイソフォームの発現 (自験)

2. 研究の目的

本研究では、大動脈解離病態で重要な役割を果たす ECM 代謝および TGF- β 経路に着目し、Salt-Inducible Kinase (SIK)の役割を明らかにすることを目的に研究を進めた。

3. 研究の方法

大動脈の主要構造物である血管平滑筋細胞を用いて、培養実験を行った。塩分負荷群は+20mM NaCl を培地に加え、実験を行った。

計画(1). 塩分過剰が SIK 経路に及ぼす影響を確認する。

培養血管平滑筋細胞を用いて培養実験を行った。通常塩分群は通常培地を用いて、また塩分負荷群は 6 時間+20mM NaCl を加えて SIK 1、3 及び下流シグナル分子 HDAC4、リン酸化 HDAC4 を Western blotting 法で検証した。

計画(2). TGF- β 経路における SIK の役割を明らかにする。

培養血管平滑筋細胞を用いて培養実験を行った。SIK 阻害薬(HG-9-91-01, MedChemExpress)を投与 1 時間後に塩分負荷を行うことで、TGF- β 経路における SIK の役割を Western blotting 法で検証した。

計画(3). 血管平滑筋細胞分化における SIK の役割を明らかにする。

培養血管平滑筋細胞を用いて培養実験を行った。SIK 阻害薬(HG-9-91-01, MedChemExpress)を投与 1 時間後に塩分負荷を行うことで、血管平滑筋細胞分化における SIK の役割を Western blotting 法で検証した。

4. 研究成果

成果(1)塩分過剰は SIK 経路を活性化する(図 6)。

培養血管平滑筋細胞に 20mM NaCl を投与することで、SIK-1 及び SIK-3 の発現が亢進した。また、その下流シグナル分子 HDAC4 のリン酸化が亢進していた。このことから、塩分過剰が SIK 経路を活性化する可能性が示唆された。

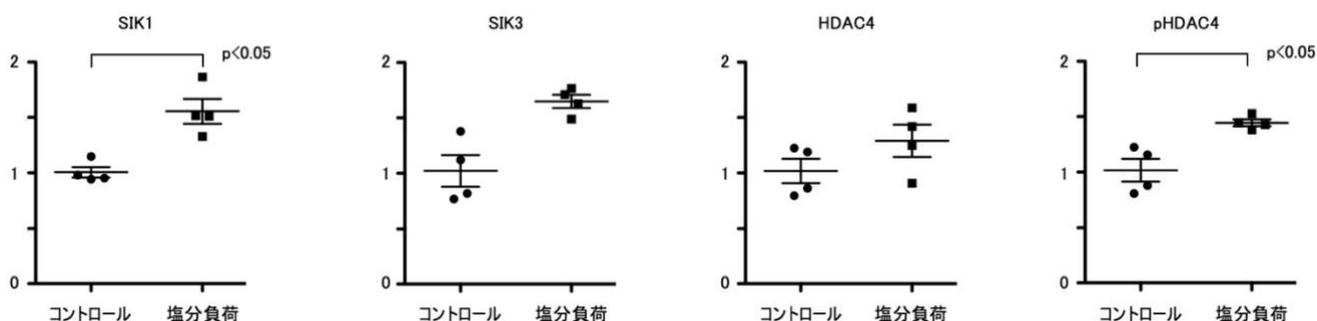


図 6.塩分過剰は SIK1 及びリン酸化 HDAC4 を亢進させる。

成果(2)SIK 阻害薬は TGF- β 経路を抑制する(図 7)。

培養血管平滑筋細胞に SIK 阻害薬を投与したところ、TGF- β 経路の下流分子である Smad2 の活性化が有意に抑制された。塩分過剰による変化は有意でなかった。

TGF- β 経路は細胞外マトリックス代謝に重要な役割を担っており、SIK が TGF- β 経路を制御している可能性が示唆された。

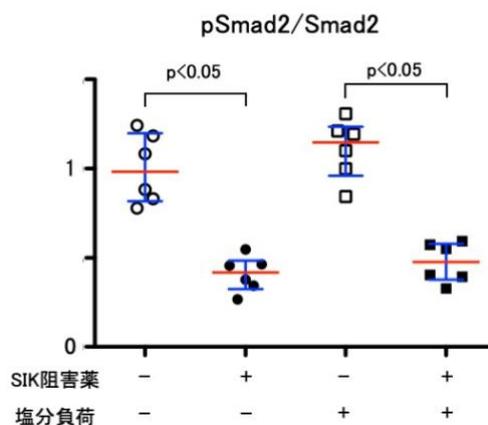


図 7. SIK 阻害薬はリン酸化 Smad2 を抑制する。

成果(3) SIK 阻害薬は血管平滑筋細胞分化に関与する。

培養血管平滑筋細胞に SIK 阻害薬を投与したところ、平滑筋細胞の分化制御分子の1つである Stat3 の活性化が有意に亢進していた(図 8)。また、収縮型血管平滑筋及び分泌型血管平滑筋のマーカー分子がいずれも亢進していた(図 9)。このことから、SIK が血管平滑筋細胞分化に関与している可能性が示唆された。

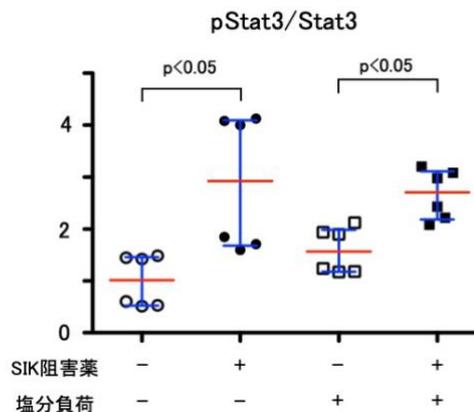


図 8. SIK 阻害薬はリン酸化 Stat3 を亢進する。

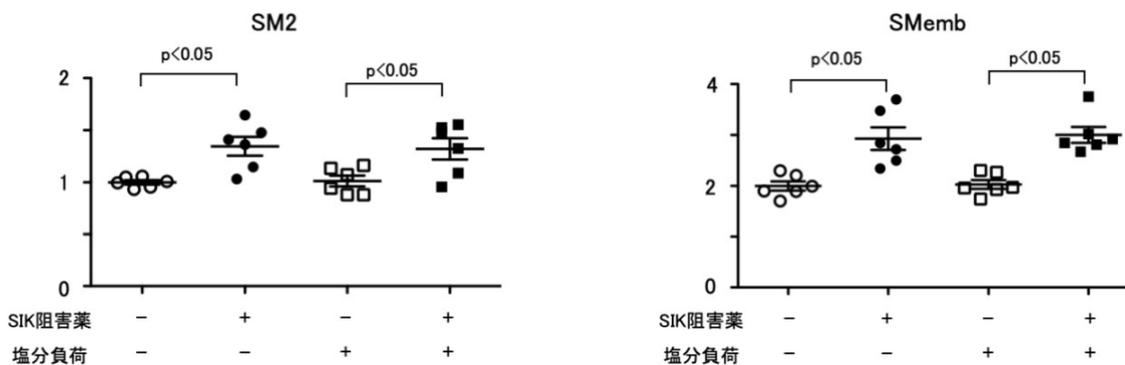


図 9. SIK 阻害薬は SM2、SMemb のいずれをも発現亢進させる。

まとめ

成果(1)-(3)から、塩分過剰が SIK 経路を活性化すること、及び SIK が血管平滑筋細胞における ECM 代謝及び血管平滑筋分化において重要な役割を担っている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nishida N, Aoki H, Ohno-Urabe S, Nishihara M, Furusho A, Hirakata S, Hayashi M, Ito S, Yamada H, Hirata Y, Yasukawa H, Imaizumi T, Tanaka H, Fukumoto Y	4. 巻 40
2. 論文標題 High salt intake worsens aortic dissection in mice: Involvement of il (interleukin)-17a-dependent ecm (extracellular matrix) metabolism.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology	6. 最初と最後の頁 189-205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.119.313336	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ito S, Hashimoto Y, Majima R, Nakao E, Aoki H, Nishihara M, Ohno-Urabe S, Furusho A, Hirakata S, Nishida N, Hayashi M, Kuwahara K, Fukumoto Y	4. 巻 15
2. 論文標題 Mrtf-a promotes angiotensin ii-induced inflammatory response and aortic dissection in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0229888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0229888	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hirakata S, Aoki H, Ohno-Urabe S, Nishihara M, Furusho A, Nishida N, Ito S, Hayashi M, Yasukawa H, Imaizumi T, Hiromatsu S, Tanaka H, Fukumoto Y	4. 巻 5
2. 論文標題 Genetic deletion of socs3 in smooth muscle cells ameliorates aortic dissection in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JACC Basic to Translational Science	6. 最初と最後の頁 126-144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jacbts.2019.10.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 0件／うち国際学会 9件）

1. 発表者名 Nishida N, Furusho A, Aoki H, Hirakata S, Ito S, Hayashi M, Hashimoto Y, Majima R, Fukumoto Y
2. 発表標題 The role of B cells and IgG in aortic dissection.
3. 学会等名 ESC Congress 2020, The Digital Experience, vertual event (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hashimoto Y, Aoki H, Majima R, Hayashi M, Nishida N, Ito S, Furusho A, Hirakata S, Ohno-Urabe S, Fukumoto Y
2. 発表標題 Syk activation is a defense mechanism of aortic wall against aortic dissection.
3. 学会等名 ESC Congress 2020, The Digital Experience, virtual event (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nishida N, Aoki H, Ohno-Urabe S, Nishihara M, Furusho A, Hirakata S, Hayashi M, Ito S, Yasukawa H, Fukumoto Y
2. 発表標題 Regulation of Extracellular Matrix Metabolism in Aortic Dissection.
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nishida N, Aoki H, Ohno-Urabe S, Nishihara M, Furusho A, Hirakata S, Hayashi M, Ito S, Yasukawa H, Fukumoto Y
2. 発表標題 High salt and IL-17A cooperatively worsens aortic dissection in mice.
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hashimoto Y, Aoki H, Majima R, Hayashi M, Nishida N, Ito S, Furusho A, Hirakata S, Ohno-Urabe S, Fukumoto Y
2. 発表標題 Syk activation is a defense mechanism of aortic wall against aortic dissection.
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1 . 発表者名 Y Hashimoto, H Aoki, R Majima, M Hayashi, S Ohno-Urabe, A Furusho, N Nishida, S Hirakata and Y Fukumoto
2 . 発表標題 Syk activation is a defense mechanism in murine model of aortic dissection.
3 . 学会等名 ESC CONGRESS 2019 (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 R Majima, H Aoki, Y Hashimoto, M Hayashi, S Ohno-Urabe, A Furusho, N Nishida, S Hirakata and Y Fukumoto
2 . 発表標題 Activation of focal adhesion kinase is involved in pathogenesis of aortic dissection in mice.
3 . 学会等名 ESC CONGRESS 2019 (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 S Ohno-Urabe, M Kase, H Aoki, M Nishihara, A Furusho, S Hirakata, N Nishida, S Ito, M Hayashi, Y Fukumoto
2 . 発表標題 Macrophage Overactivation Promotes Aortic Dissection Associated with Medial Expression of Arf and Impaired Proliferation of Smooth Muscle Cells in Mice.
3 . 学会等名 Vascular Discovery: From Genes to Medicine Scientific Sessions 2019 (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Y Hashimoto, H Aoki, R Majima, M Hayashi, S Ito, S Ohno-Urabe, A Furusho, N Nishida, S Hirakata, Y Fukumoto
2 . 発表標題 Involvement of Syk in pathogenesis of aortic dissection.
3 . 学会等名 第83回日本循環器学会学術集会
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 R Majima, H Aoki, Y Hashimoto, M Hayashi, S Ito, S Ohno-Urabe, A Furusho, N Nishida, S Hirakata, Y Fukumoto
2 . 発表標題 FAK Promotes Tissue Destruction in Murine Model of Aortic Dissection.
3 . 学会等名 第83回日本循環器学会学術集会
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Ohno-Urabe S, Aoki H, Nishihara M, Furusho A, Hirakata S, Nishida N, Ito S, Hayashi Y, Ito S, Hashimoto Y, Majima R, Fukumoto Y
2 . 発表標題 Overactivation of macrophage promotes aortic dissection through the induction of Ink4a/Arf and impairment of smooth muscle proliferation in mouse aorta.
3 . 学会等名 ESC Congress 2018 (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Ito S, Aoki H, Nishihara M, Ohno-Urabe S, Furusho A, Hirakata S, Nishida N, Hayashi Y, Ito S, Hashimoto Y, Majima R, Kuwahara K, Fukumoto Y
2 . 発表標題 MRTF-A mediates aortic smooth muscle cell apoptosis and inflammatory response to develop aortic dissection.
3 . 学会等名 ESC Congress 2018 (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Majima R, Aoki H, Hashimoto Y, Hayashi Y, Ito S, Ohno-Urabe S, Furusho A, Nishida N, Hirakata S, Fukumoto Y
2 . 発表標題 Focal adhesion kinase promotes fatal destruction of aortic wall in aortic dissection in mice.
3 . 学会等名 The 2nd JCS Council Forum on Basic CardioVascular Research
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 Hashimoto Y, Aoki H, Majima R, Hayashi Y, Ito S, Ohno-Urabe S, Furusho A, Nishida N, Hirakata S, Fukumoto Y
2. 発表標題 The role of Syk in pathogenesis of aortic dissection.
3. 学会等名 The 2nd JCS Council Forum on Basic CardioVascular Research
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Majima R, Aoki H, Hashimoto Y, Hayashi Y, Ito S, Ohno-Urabe S, Furusho A, Nishida N, Hirakata S, Fukumoto Y
2. 発表標題 Focal Adhesion Kinase Promotes the Fatal Destruction of Aortic Wall in Aortic Dissection in Mice.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hashimoto Y, Aoki H, Majima R, Hayashi Y, Ito S, Ohno-Urabe S, Furusho A, Nishida N, Hirakata S, Fukumoto Y
2. 発表標題 Protective Role of Syk in Pathogenesis of Aortic Dissection in Mice.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	青木 浩樹 (Aoki Hiroki) (60322244)	久留米大学・付置研究所・教授 (37104)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	田中 啓之 (Tanaka Hiroyuki) (70197466)	久留米大学・医学部・教授 (37104)	削除:2019年12月9日

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関