

令和 3 年 6 月 19 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15907

研究課題名(和文)左室駆出率が保たれた心不全の新しいパラダイム：血管平滑筋細胞を中心とした病態解明

研究課題名(英文)A new paradigm of heart failure with preserved ejection fraction : Elucidation of pathology focusing on vascular smooth muscle cells

研究代表者

柴田 龍宏 (Shibata, Tatsuhiro)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20776942

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、左室駆出率が保たれた心不全(HFpEF)の病態形成に血管平滑筋細胞のSTAT3経路が重要な役割を果たしている可能性を証明することである。そこで申請者は平滑筋特異的SOCS3-KOマウスを使用し、加齢に伴う変化を評価した。その結果、心エコー図検査ではKO群では有意に拡張障害が出現し、肉眼的にも心肥大、心外膜肥厚を認め、心臓重量/体重比も有意に上昇した。さらに、KO群では加齢に伴い有意に心外膜肥厚および心筋線維化をきたしており、STAT3の活性化も有意であり、血清IL-6の有意な上昇も認められていた。以上より、慢性炎症に伴うSTAT3の活性化が強く関与している可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会の進展に伴い、我が国ではHFpEFの占める割合が増加しているが、HFpEFには未だ予後改善をもたらす治療法はまだ確立されていない。そこで、本研究ではHFpEFにおける慢性炎症が心臓・動脈の両者に与える影響を検討し、また平滑筋細胞に焦点をあてて解明することで、病態を統一的に理解し、この理解に基づいてHFpEFの新たな治療開発の基盤となる知見を得ることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to clarify the possibility that the STAT3 pathway of vascular smooth muscle cells plays an important role in the pathogenesis of heart failure with preserved ejection fraction(HFpEF). Therefore, the applicant used smooth muscle cell specific SOCS3-KO mice to evaluate age-related changes. As a result, echocardiography showed significant diastolic dysfunction in the KO group, macroscopically, cardiac hypertrophy and epicardial thickening, and the cardiac weight/ body weight ratio also increased significantly. Furthermore, in the KO group, epicardial thickening and myocardial fibrosis were significantly caused with aging, STAT3 activation was also significant, and a significant increase in serum IL-6 was also observed. From the above, it is considered that the activation of STAT3 associated with chronic inflammation may be strongly involved.

研究分野：分子循環器学

キーワード：HFpEF SOCS3 JAK/STAT経路

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究の学術的背景

高齢化社会の進展に伴って我が国の心不全患者数は2030年に130万人を超えると予測されており、(Okura, *Circ* 2008)、その中でも左室駆出率の保たれた心不全(HFpEF; Heart failure with preserved ejection fraction)の占める割合が著増している(Shiba, *Circ J* 2011)。左室駆出率が低下した心不全(HFrEF; Heart failure with reduced ejection fraction)は予後改善療法の進歩が著しい一方で、HFpEFの予後改善をもたらす治療はまだ確立しておらず、その制圧は超高齢化社会の大きな課題である。HFpEFは加齢や生活習慣病(高血圧や糖尿病、肥満、腎機能障害等)といった全身炎症促進状態との関連が示唆されている(Leite-Moreia AF, *Heart* 2006)。病的・病態生理的には心筋細胞肥大および細胞外マトリックスにおけるコラーゲン蓄積増加(間質線維化)による拡張障害に加え、動脈スティフネス亢進の重要性が指摘されている(Lam CS, *Circulation* 2007)。しかし、多彩なHFpEFの基礎病態が、どのような普遍的な共通経路を通して左室拡張障害と動脈スティフネスの療法に影響を与えるかについての統一的な理解が得られておらず、そのことが治療ターゲットの未確立につながっていると考えられる。Signal transducer and activator of transcription-3 (STAT3)経路は、サイトカインによって活性化される転写因子であり、心筋細胞の生存や心臓線維化等の重要経路であることが報告されている(Fujio, *J Pharmacol Sci* 2011)。申請者は、HFpEFにおける慢性炎症が心臓・動脈の両者に与える影響を検討するにあたり、血管平滑筋細胞のSTAT3経路とその負の制御因子であるsuppressor of cytokine signaling-3 (SOCS3)に着目した。

(2) 申請者独自の知見

申請者は、SOCS3を平滑筋細胞特異的にノックアウトすることによって、平滑筋細胞特異的にSTAT3経路を増強したマウス(smSOCS3-KO)を作成した。smSOCS3-KOマウスを経時的に観察したところ、若年時には野生型と比較して心臓の組織所見に差は認めなかったが、加齢に伴って心臓間質と心外膜に著明な線維化を認めた。一方で、野生型とsmSOCS3-KOマウスの左室駆出率(LVEF)に有意差はなく、共に維持されていた。また、smSOCS3-KOマウスでは、大動脈外膜にも著明な線維化を認め、所属研究室が開発した血管の物理特性計測装置によって動脈スティフネスの亢進も確認された(Hirakata, *ESC Congress 2016, AHA Scientific Sessions 2015*他)。

2. 研究の目的

これまでの知見から、申請者は血管平滑筋細胞のSTAT3経路が、心臓と動脈のコラーゲン蓄積による左室拡張障害と動脈スティフネス亢進に重要な役割を果たすことで、HFpEFの病態形成に関与する可能性に気づいた。HFpEFの危険因子はいずれも全身の慢性炎症を基礎とする病態であり、血管平滑筋細胞細胞のSTAT3経路を活性化し得る。本研究では、HFpEFの原因となる種々の慢性炎症による血管平滑筋細胞STAT3経路活性化の増強が、コラーゲン蓄積を中心としたHFpEF発症における心臓と動脈の共通した重要経路であるとの仮説を検証する。

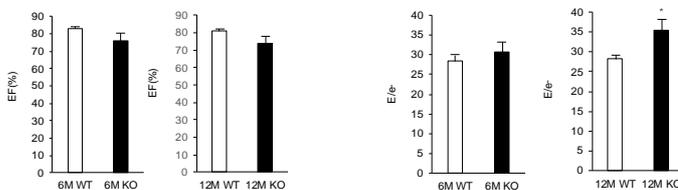
3. 研究の方法

加齢と平滑筋細胞の SOCS3 が HFpEF 病態に及ぼす影響に関し検証した。雄の野生型マウス(WT)と平滑筋特異的 SOCS3 ノックアウトマウス(KO)に対し、加齢による経時的変化(半年モデル:26~30週齢、1年モデル:52~56週齢)を評価し比較検討を行った。形態学的評価として、肉眼所見を比較し、さらに体重、臓器重量/体重比の測定を行った。また、心エコー図検査による心機能を評価した。シリウスレッド染色で線維化の程度を評価し、ウエスタンブロットによる蛋白解析で STAT3 の活性化を評価した。

4. 研究成果

加齢と平滑筋細胞の SOCS3 が及ぼす影響に関し検証するため、WT 群、KO 群それぞれで加齢による心機能の経時的変化を心エコー図検査で確認した。その結果、WT、KO 群ともに加齢により左室駆出率(LVEF)の低下は認めず、保たれていたが、E/e' は1年モデルで KO 群で有意に上昇しており、KO 群では加齢に伴い拡張障害が出現することを示唆する所見であった(図1)。

図1 KO群では加齢に伴いLVEFは保たれているものの拡張障害が出現する



心臓における変化を確認するため、心臓の肉眼的、組織学的評価を行った。まず、肉眼的には、心外膜および心臓結合組織は KO で有意に増殖し、加齢に伴い KO 群で心肥大傾向を認めていた(図2)。体重は若年により有意に KO 群で少なく、加齢に伴いその差は顕著であった。心臓重量も KO 群で有意に増加しており、心臓重量/体重比も KO 群で有意に大きくなるという結果が得られた(図3,4,5)。組織学的には、心筋はシリウスレッド染色で KO 群で有意な心外膜の肥厚および心筋の線維化をきたしており(図6)、Western blot による蛋白解析では WT と比較し KO では STAT3 の活性化している傾向を認めていた(図7)。さらに、血中 IL-6 の測定を行ったところ、KO 群で有意な上昇を認めていた。

図2 KO群では心外膜肥厚、結合組織の増殖を認める

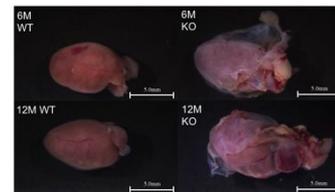


図3 KO群では加齢に伴い体重増加に乏しい

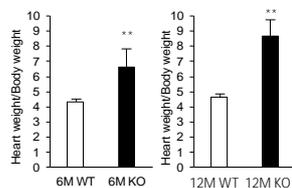


図4 KO群では加齢に心臓重量が増加する

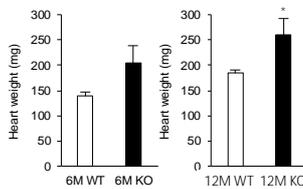


図5 KO群では加齢に伴い心臓重量/体重比が増加する

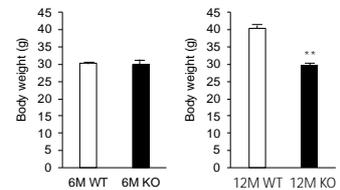


図6 KO群では加齢に伴い心外膜肥厚、心筋線維化が顕著となる

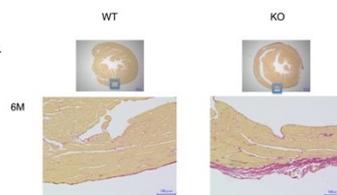
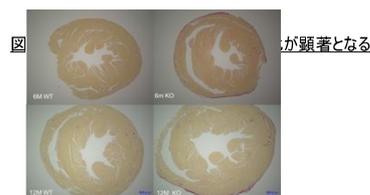
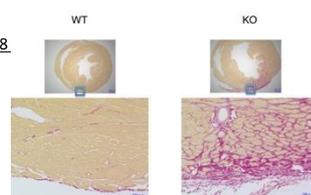
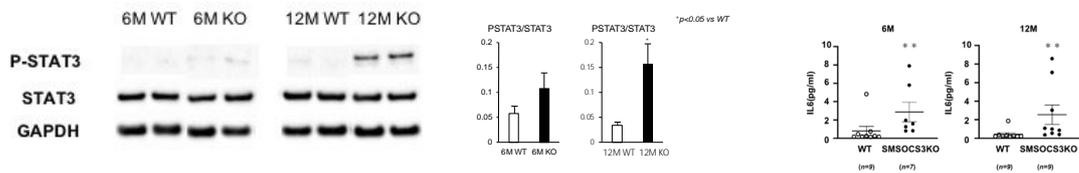


図8





これらの結果より、HFpEF のリスク因子である加齢に伴い、smSOCS3-KO 群では、拡張障害を主体とした心機能の低下を来し、肉眼的にも心外膜肥厚や心筋線維化が高度となり、臓器重量/体重比の増加からも臓器うっ血を示唆する所見を認めており、それらの原因として慢性炎症に伴う STAT3 の活性化によることが考えられた。今後はさらに若年モデルでの評価に加え、拡張障害による心不全の原因として、心外膜肥厚や心筋線維化による心外膜炎の可能性も考え、血行動態評価や STAT3 の局在性の評価を行っていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Toshiyuki Yanai, Hideo Yasukawa, Kazutoshi Mawatari, Tomoko Sasaki, Jinya Takahashi, Shoichiro Nohara, Koutatsu Shimozono, Tatsuhiro Shibata, Kota Okabe, Mai Yamamoto, Yoshihiro Fukumoto
2. 発表標題 Smooth muscle cell-specific SOCS3 deficiency promote pericardial fibrosis and diastolic dysfunction in aging mice
3. 学会等名 ESC Congress 2020 The Digital Experience (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 楊井 俊之、安川 秀雄、馬渡 一寿、佐々木 知子、高橋 甚彌、野原 正一郎、柴田 龍宏、下園 弘達、岡部 浩太、赤垣 大樹、山本 真衣、福本 義弘
2. 発表標題 Smooth Muscle Cell-Specific SOCS3 Deficiency Promote Pericardial Fibrosis and Diastolic Dysfunction in Aging Mice
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshiyuki Yanai, Hideo Yasukawa, Kazutoshi Mawatari, Tomoko Sasaki, Jinya Takahashi, Shoichiro Nohara, Koutatsu Shimozono, Tatsuhiro Shibata, Kota Okabe, Mai Yamamoto, Yoshihiro Fukumoto
2. 発表標題 Increased Pericardial Fibrosis and Cardiac Dysfunction in Smooth Muscle Cell-Specific SOCS3 Deficient Mice
3. 学会等名 ESC congress2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 楊井 俊之、安川 秀雄、馬渡 一寿、野原 正一郎、高橋 甚彌、柴田 龍宏、下園 弘達、岡部 浩太、山本 真衣、福本 義弘
2. 発表標題 平滑筋特異的SOCS3欠損マウスは加齢に伴い心外膜肥厚と心機能障害を呈する
3. 学会等名 Kyushu Cardio-Vascular Research Forum
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------