

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16549

研究課題名（和文）虚血に対する心筋保護における非心筋細胞の役割 STAT3シグナル制御の視点から

研究課題名（英文）Role of non-cardiomyocytes in myocardial protection against ischemia ~ the perspective of STAT3 signal regulation ~

研究代表者

楊井 俊之 (Yanai, Toshiyuki)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：50811072

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）：本研究の目的は心筋梗塞（MI）後リモデリングの病態における平滑筋細胞SOCS3の役割を明らかにすることである。平滑筋細胞特異的SOCS3欠損マウス（SOCS3-smKOマウス）では野生型マウス（WTマウス）に比べてMI後24時間以内の死亡率が高く、心室頻拍から心室細動への移行と共に突然死が観察された。その一方で、SOCS3-smKOマウスではWTマウスでは3割のマウスに起こる心破裂が全く観察されず、梗塞層への細胞浸潤や線維化、梗塞層の肥厚が亢進していた。これらの結果は平滑筋細胞SOCS3がMI後リモデリングに関与し、致死性不整脈や心破裂の発症に重要な働きを持つ可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心筋ストレス障害における心筋細胞のSTAT3/SOCS3経路の役割は理解が進んでいるが、非心筋細胞である血管平滑筋細胞における役割は不明のままである。本研究により、平滑筋細胞SOCS3がMI後不整脈の出現を促進し、心破裂の発症を抑制するという突然死に関与することが示された。平滑筋細胞のSTAT3/SOCS3経路の役割を明らかにすることで新たな治療戦略発展に役立つと期待できる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to clarify the role of smooth muscle cell SOCS3 in the pathology of remodeling after myocardial infarction (MI). The smooth muscle cell-specific SOCS3-deficient mouse (SOCS3-smKO mouse) had a higher mortality rate within 24 hours after MI compared with the wild-type mouse (WT mouse), and was accompanied by the transition from ventricular tachycardia to ventricular fibrillation after MI. Sudden death was observed. On the other hand, in SOCS3-smKO mice, cardiac rupture which occurred in 30% of WT mice was not observed. In addition, cell infiltration and fibrosis in the infarct layer and hypertrophy of the infarct layer were enhanced in SOCS3-smKO mice. These results suggest that smooth muscle cell SOCS3 may be involved in post-MI remodeling and have an important role in the development of lethal arrhythmias and cardiac rupture.

研究分野：分子循環器学

キーワード：STAT3 SOCS3 梗塞後心不全 虚血性心疾患

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

（1）研究の学術的背景

冠動脈形成術による再灌流療法の進歩に伴い急性心筋梗塞の救命率は著しく向上した。しかし、一方で梗塞後に心不全となる症例が増加し、今後も心不全症例が急増すると考えられている（Mudd JO, Nature 2008）。再灌流の際に誘発される再灌流心筋傷害や梗塞後の心筋リモデリングが梗塞範囲の拡大に寄与しており、梗塞後心不全を予防するためには再灌流心筋傷害や心筋リモデリングを抑制することが極めて重要である（Hausenloy DJ, J Clin Invest 2013）。

Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT)経路は生体の恒常性の維持に不可欠の細胞内情報伝達経路である。再灌流心筋傷害や心筋リモデリングなどの虚血性心筋傷害において、心筋細胞内の STAT3 の活性化は心筋保護に重要であることが多くの研究で示されている（Bolli R, Trends Cardiovasc Med 2013）。また、STAT3 のネガティブフィードバック因子である suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS3)を心筋特異的にノックアウトしたマウスでは、STAT3 の活性化が遷延増強することによって再灌流心筋傷害や心筋リモデリングが顕著に抑制されることが明らかにされている（Oba T, J Am Coll Cardiol 2012, Nagata T, PLOS ONE 2015）。

このように心筋細胞での STAT3/SOCS3 経路の役割が明らかになる一方で、虚血性心筋傷害における心臓の平滑筋細胞などの非心筋細胞の STAT3/SOCS3 経路の役割については理解が進んでいない。

（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 経路の活性化を増強したマウス(smSOCS3-KO)を作成している。このマウスにアンジオテンシン II を負荷すると、野生型マウスと比較して 14 日後に心筋内に著明な線維化が起こることを見出し、心筋リモデリングにおける非心筋細胞である平滑筋細胞の STAT3/SOCS3 経路の重要な役割が示唆される。従って、虚血再灌流による急性期の心筋傷害や梗塞後の心筋リモデリングにおいても、smSOCS3-KO マウスにおいて何らかの表現系が得られると期待される。

2. 研究の目的

心筋障害ストレスがかかった状態では、平滑筋細胞などの非心筋細胞も活性化状態や形質にも変化が起こることが示唆される。したがって、虚血性心筋傷害の病態においても非心筋細胞が重要な役割を果たしている可能性がある。本研究では、平滑筋細胞特異的な SOCS3 のノックアウトマウスに梗塞後心不全モデルを作成し、虚血性心筋傷害の病態における平滑筋 STAT3/SOCS3 経路の役割が明らかにすることを研究目的とする。

3. 研究の方法

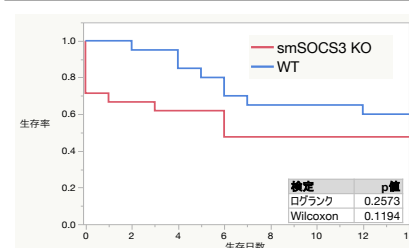
雄性マウスに左冠動脈前下行枝の恒久的結紮によるマウス心筋梗塞を使用する。8-12 週齢の野生型マウス（WT マウス）及び平滑筋特異的な SOCS3 欠損マウス（smSOCS3-KO マウス）に心筋梗塞を作製し、心筋梗塞作製後 14 日間の生存率を比較する。心筋リモデリングの評価として、形態学的、組織学的評価を行い、WT マウスと smSOCS3-KO マウスで比較する。

4. 研究成果

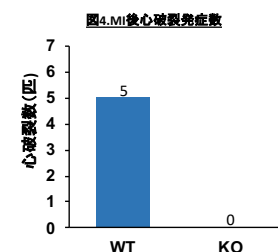
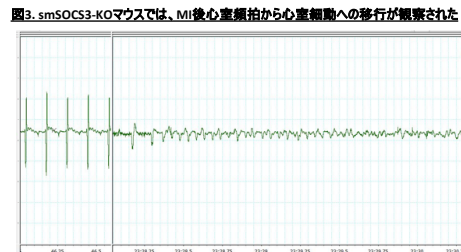
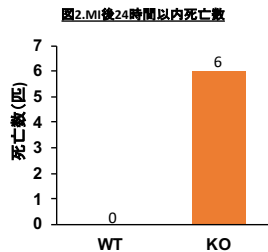
（1）心筋梗塞後生存率における平滑筋 SOCS3 欠損の影響

心筋梗塞後左室リモデリングにおける平滑筋 SOCS3 の役割を検証するために、WT マウス及び smSOCS3-KO マウスの MI モデルを作製し、MI 後 14 日間の生存率を比較した。WT マウスと smSOCS3-KO マウスでは、MI 後の生存率に有意な差はなかった（図 1）。しかし SOCS3-smKO マウスは WT マウスに比べ、心筋梗塞発症 24 時間以内に有意に高い死亡率が観察された（図 2）。この心筋梗塞後早期の突然死は、心室性の致死性不整脈の可

図1.WTマウスとsmSOCS3 KOマウスのMI後生存率に差はない



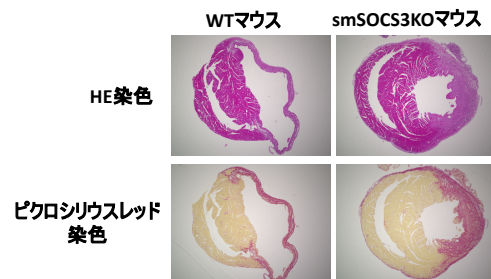
能性が考えられ、モデル作成後に心電図で不整脈を観察したところ、経過中に心室頻拍から心室細動への移行と共に突然死が観察された（図 3）。一方で、WTマウスのうち3～4割のマウスが心筋梗塞後3～5日目に心破裂を呈することに対し、SOCS3-smKO マウスでは心破裂が全く観察されなかった（図 4）。これらの結果から、平滑筋細胞の Jak/STAT 経路とその制御分子である SOCS3 が、心筋梗塞後の致死性不整脈や心破裂発症による突然死に重要な働きを持つ可能性が示唆された。



（2）組織学的評価

SOCS3-smKO マウスではMI 後、不整脈や心破裂の発症に関与したことから、SOCS3-smKO マウスが構造的な異常を有している可能性が考えられた。生後 12 週目までの SOCS3-smKO マウスの心臓をH E 染色やシリウスレッドで形態学的に評価したところ、WTマウスと SOCS3-smKO マウスに形態学的差は見られなかった。一方で、心筋梗塞後 14 日目の SOCS3-smKO マウスでは WT マウスに比べて、梗塞層に厚みがあり、細胞浸潤に加えて線維化が亢進していた（図 5）。さらに SOCS3-smKO マウスでは心外膜の肥厚も亢進していた（図 5）。SOCS3-smKO マウスの心外膜は肉眼的にも観察でき、心室全体を包むように出現していた。SOCS3-smKO マウスではこの膜の出現によって、心破裂が抑制される可能性がある。

図5. smSOCS3-KOマウスではMI後梗塞壁および心外膜肥厚が亢進している



今回の結果から平滑筋細胞の SOCS3 が MI 後不整脈や心破裂の発症に関与することが示された。今後は MI 後モデリングに加えて不整脈に焦点を当て、SOCS3-smKO マウスを用いて、梗塞領域に浸潤した細胞の同定や線維化、分子活性化、心機能の評価を行い、虚血性心筋傷害の病態における平滑筋 STAT3/SOCS3 経路の役割を解明して予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takahashi J, Yamamoto M, Yasukawa H, Nohara S, Nagata T, Shimozone K, Yanai T, Sasaki T, Okabe K, Shibata T, Mawatari K, Kakuma T, Aoki H, Fukumoto Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 Interleukin-22 Directly Activates Myocardial STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription-3) Signaling Pathway and Prevents Myocardial Ischemia Reperfusion Injury.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/JAHA.119.014814.	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4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 山本真衣、安川秀雄、高橋甚彌、野原正一郎、佐々木知子、下園弘達、柴田龍宏、楊井俊之、岡部浩太、馬渡一寿、福本義弘。
2. 発表標題 心筋梗塞後の創傷治癒におけるIL-22の役割
3. 学会等名 第127回日本循環器学会九州地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toshiyuki Yanai, Hideo Yasukawa, Kazutoshi Mawatari, Tomoko Sasaki, Jinya Takahashi, Shoichiro Nohara, Koutatsu Shimozone, 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 Yamamoto M, Yasukawa H, Takahashi J, Shimozone K, Mawatari K, Nagata T, Nohara S, Sasaki T, Shibata T, Yanai T, Fukumoto Y.
2. 発表標題 Genetic deletion of IL-22 increased cardiac rupture after myocardial infarction 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 山本真衣、安川秀雄、高橋甚彌、野原正一郎、佐々木知子、下園弘達、柴田龍宏、楊井俊之、岡部浩太、福本義弘
2. 発表標題 心筋梗塞後の組織修復におけるIL-22の役割
3. 学会等名 第19回日本N0学会学術集会
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
--	---------------------------	-----------------------	----