

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08502

研究課題名(和文)血管老化を起点とする老化関連疾患発症メカニズムの解明

研究課題名(英文)Analysis for a role of vascular senescence in age-related disease

研究代表者

池田 宏二 (Ikeda, Koji)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90423871

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：私達は血管内皮細胞特異的の老化マウスを用いて代謝疾患および動脈硬化における血管老化の役割を解析した。血管内皮特異的の老化マウスでは脂肪の早期老化が誘導され、脂肪機能が障害される結果、全身の代謝異常が引き起こされることがわかった。更にパラビオーシスモデルの解析により、この血管老化による脂肪機能異常には老化血管内皮細胞が分泌する液性因子が重要であることを明らかとした。加えて、血管内皮細胞老化が動脈硬化の進展に及ぼす影響を解析した。その結果、血管内皮細胞が老化するとエピジェネティックな変化が原因でNF- $\kappa$ Bシグナルが亢進し、接着因子の発現が増加して動脈硬化巣の進展・不安定化が増悪することを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界中の先進国では人口の高齢化が進んでおり、特に本邦は世界的にも群を抜いた超高齢化社会となっている。今後、超高齢化社会を健全に継続・維持していくためには健康寿命を延伸し、高齢者の社会活動を増やしながらい医療費を削減していくことが必須である。そのためには老化および老化関連疾患の未知の分子機構を解明し、新たな治療・予防標的を見出す必要がある。本研究成果から血管内皮細胞の老化が代謝異常や動脈硬化を進展・増悪させる重要な因子であることが明らかとなった。老化血管内皮細胞は老化関連疾患を予防・治療するための新しい標的として大変有望である。

研究成果の概要(英文)：We have analyzed a role of senescent endothelial cells (EC) in age-related metabolic and atherosclerotic diseases by using EC-specific progeroid mice. We identified that senescent ECs cause premature senescence and dysfunction of adipocytes, leading to systemic metabolic disorders. By using parabiosis model, we revealed that senescent ECs induce adipocyte dysfunction through soluble secreted factors. Also, we mated these EC-specific progeroid mice with ApoE-KO mice, and analyzed a role of EC senescence in atherosclerosis. We identified that NF- $\kappa$ B signaling is enhanced in senescent ECs because of epigenetic modification, which enhance adhesion molecules expression in ECs and exacerbate atherosclerosis in EC-specific progeroid mice. These data clearly revealed a direct and causative role of senescent ECs in age-related metabolic and atherosclerotic diseases, and thus senescent ECs are potential therapeutic target for prevention of age-related diseases.

研究分野：血管生物学

キーワード：血管内皮細胞 老化 代謝疾患 動脈硬化 細胞老化

## 1. 研究開始当初の背景

世界中の先進国では人口の高齢化が進んでいる。特に本邦は高齢者人口の増加が著しく、世界的にも群を抜いた超高齢化社会となっている。本邦における平均寿命は現在も延伸を続ける一方で、健康寿命と平均寿命の間には約 10 年の開きがあり、その差はここ 10 年以上縮まらない状態が続いている。即ち、多くの日本人が晩年の 10 年間で不健康な状態で過ごし、その状況が 10 年以上改善されていないということである。今後、超高齢化社会を健全に継続・維持していくためには健康寿命を延伸し、高齢者の社会活動を増やしながらい医療費を削減していくことが必須である。そのためには老化および老化関連疾患の未知の分子機構を解明し、新たな治療・予防標的を見出す必要がある。

「人は血管とともに老いる」と言われるように、血管の老化は個体の老化において重要な役割を果たすと考えられてきたが、血管老化が老化関連疾患の発症・進展に原因的な役割を果たすかどうかは長らく明らかとされていなかった。血管の恒常性維持に最も重要な役割を果たすのは血管内皮細胞である。血管内皮細胞は全ての血管の内層を覆う一層の細胞であり、血管新生・機能の制御だけでなく、様々な分泌因子を介して臓器の機能維持にも積極的に関与している。そこで血管老化に注目して老化および老化関連疾患の未知の分子機構を解明することとした。

## 2. 研究の目的

個体の老化および老化関連疾患の発症・進展における血管老化の役割を解明し、老化血管を標的とした新しい抗加齢療法、老化関連疾患予防・治療法の開発に繋がる知見を得ることが本研究の目的である。

## 3. 研究の方法

一般的に老化の研究には高齢のマウスを用いることが多いが、高齢マウスでは様々な種類の細胞が老化を来しているため、血管内皮細胞老化の影響だけを特異的に抽出して解析することが不可能である。そこで私達は血管内皮細胞だけが特異的に老化したマウスの作出を行ない、血管内皮細胞の老化が老化関連疾患の発症・進展に及ぼす影響の解析を行うこととした。

テロメア結合タンパクである TRF2 は染色体末端のループ構造形成に必須であり、その機能阻害は強い DNA ストレスを惹起して細胞のストレス誘導性早期老化を引き起こすことが報告されている。そこで私達は TRF2 のドミナントネガティブ体 (TRF2DN) を血管内皮特異的なプロモーター (Tie2 および VE-cadherin プロモーター) を用いて血管内皮細胞に過剰発現させることで、血管内皮細胞だけが特異的に老化したマウスを作出した。本研究では私たちが独自に作出に成功した血管内皮特異的の老化マウスを用いて糖・エネルギー代謝や動脈硬化病変を解析し、これら疾患・病態における血管内皮細胞老化の役割の解明を行なった。

#### 4 . 研究成果

血管内皮特異的老化マウスでは、通常食を与えた状況でも 20 週齢の時点で全身のインスリン感受性が低下し、糖尿病を発症しやすくなることがわかった。これら血管内皮特異的老化マウスでは脂肪組織における酸化ストレスが増大して脂肪細胞が早期老化に陥り、その結果、脂肪組織におけるインスリンシグナルが障害されて、全身の代謝異常が引き起こされることが明らかとなった。老化細胞は様々な分泌因子によって周辺および遠隔の細胞機能を障害することが知られている (Senescence-Associated Secreted Phenotype: SASP)。血管内皮細胞老化による脂肪機能異常・全身の代謝異常が SASP によるものであることを証明するために 2 匹のマウスの血液循環を共有させるパラビオーシスモデルを作成した。血管内皮特異的老化マウスと血液循環を共有させた野生型マウスでは内皮老化マウスと同様に脂肪細胞の早期老化と全身の代謝異常を認め、血管内皮細胞の老化は SASP を介して脂肪組織を障害すると考えられた。また、老化血管内皮細胞による SASP の上流では IL-1a の活性化が重要であり、IL-1a の機能阻害が血管内皮 SASP の抑制に有用である可能性が示唆された。加えて、SASP を引き起こす老化関連分泌因子群の概要を明らかとするために、若い血管内皮細胞および老化血管内皮細胞から分泌された因子群を含む培養上清を準備し、この上清中に含まれるタンパク質を質量分析解析によって解析・同定するショットガンセクレトーム解析を行なった。様々なタンパクが同定できたが、細胞外に分泌されないと考えられるタンパクが数多く検出されたり、SASP 因子として機能するはずのサイトカイン類がほとんど検出できなかったりとアッセイ系が上手くワークしていないと考えられ、有意義な結果を得ることが出来なかった。

最終年度には血管内皮細胞老化が動脈硬化の発症・進展に及ぼす影響について解析を行なった。ApoE-KO マウスと私達が作出した血管内皮特異的老化マウスを交配し、血管内皮細胞だけが老化した動脈硬化モデルマウスを作成した。これらマウスに高コレステロール食を与えて動脈硬化の進展を解析した結果、血管内皮が老化したマウスでは早期(高コレステロール食負荷 2 週間)から動脈硬化巣の形成が促進され、後期(高コレステロール食負荷 8 週間)になると粥腫の不安定化が増悪することが明らかとなった。更に血管内皮細胞老化が動脈硬化を増悪させるメカニズムの解析を進めた結果、老化血管内皮細胞では炎症刺激時の NF- $\kappa$ B シグナルが著明に亢進しており、その結果、VCAM-1 などの接着因子の発現が強く誘導され、単球の接着が促進されることがわかった。更に NF- $\kappa$ B シグナル亢進は老化に伴う epigenetic な変化が原因であることを見出した。これらの結果から、血管内皮細胞の老化は老化関連疾患の発症に非常に強く関わっていることが明らかとなり、血管内皮細胞老化の予防は健康長寿に繋がる治療戦略として有望であると考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Adhikara Imam Manggalya, Yagi Keiko, Mayasari Dyah Samti, Suzuki Yoko, Ikeda Koji, Ryanto Gusty Rizky Teguh, Sasaki Naoto, Rikitake Yoshiyuki, Nadanaka Satomi, Kitagawa Hiroshi, Miyata Okiko, Igarashi Michihiro, Hirata Ken-ichi, Emoto Noriaki	4. 巻 41
2. 論文標題 Chondroitin Sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase-2 Impacts Foam Cell Formation and Atherosclerosis by Altering Macrophage Glycosaminoglycan Chain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology	6. 最初と最後の頁 1076~1091
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.120.315789	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ryanto Gusty R. T., Ikeda Koji, Miyagawa Kazuya, Tu Ly, Guignabert Christophe, Humbert Marc, Fujiyama Tomoyuki, Yanagisawa Masashi, Hirata Ken-ichi, Emoto Noriaki	4. 巻 12
2. 論文標題 An endothelial activin A-bone morphogenetic protein receptor type 2 link is overdriven in pulmonary hypertension	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1730-1734
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-21961-3	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 該当する
1. 著者名 Prabata A, Ikeda K, Rahardini EP, Hirata K-I, Emoto N	4. 巻 297
2. 論文標題 GPNMB plays a protective role against obesity-related metabolic disorders by reducing macrophage inflammatory capacity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Biol Chem	6. 最初と最後の頁 101232-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.101232	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Honda S, Ikeda K, Urata R, Yamazaki E, Emoto N, Matoba S	4. 巻 11
2. 論文標題 Cellular senescence promotes endothelial activation through epigenetic alteration, and consequently accelerates atherosclerosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 14608-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-94097-5	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6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Koji Ikeda
2. 発表標題 Endothelial cell senescence in aging and disease
3. 学会等名 The 86th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Andreas Haryono, Koji Ikeda
2. 発表標題 Chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase-2 plays a protective role in pressure overload-induced cardiac remodeling and heart failure
3. 学会等名 The 86th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Risa Ramadhiani, Koji Ikeda
2. 発表標題 Senescent Endothelial Cells Exacerbate Pulmonary Hypertension through Notch-mediated Juxtacrine Interaction with Pulmonary Artery Smooth Muscle Cell
3. 学会等名 European Society of Cardiology (ESC) Congress (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Andreas Haryono, Koji Ikeda
2. 発表標題 Chondroitin sulfate n-acetylgalactosaminyltransferase-2 (ChGn-2) plays a significant role in cardiac remodeling and heart failure following pressure overload
3. 学会等名 European Society of Cardiology (ESC) Congress (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Adam Prabata, Koji Ikeda
2. 発表標題 GPNMB Protects Against Obesity-related Metabolic Disorders by Attenuating Macrophage-derived Inflammation in White Adipose Tissue through CD44 Receptor-dependent Mechanism
3. 学会等名 European Society of Cardiology (ESC) Congress (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Risa Ramadhiani, Koji Ikeda
2. 発表標題 Endothelial Cells Senescence Exacerbates Pulmonary Hypertension Through Notch-Induced Pulmonary Arterial Smooth Muscle Cells Proliferation and Migration
3. 学会等名 American Heart Association (AHA) Scientific Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021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