

令和 5 年 6 月 29 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08494

研究課題名(和文) 大動脈弁狭窄症の発症メカニズムにおけるDNA損傷・細胞老化の役割

研究課題名(英文) The role of DNA damage in the development of aortic stenosis

研究代表者

石田 隆史 (Ishida, Takafumi)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：40346482

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、DNA損傷が大動脈弁狭窄症(AS)の発症・進展に関与しているか否かを検証した。重症AS患者より末梢血を採取、単核球を分離し、DNA二本鎖切断の指標として核内のgammaH2AXのフォーカスを免疫蛍光法にて描出し、1細胞あたりのフォーカス数を算出した。またFISHを用いて二本鎖切断に基づく異常染色体として二動原体染色体を検出した。AS群は非AS群に比して、DNA損傷が多かったが、男性に比して女性においてその傾向が強かった。また単核球中のいくつかの炎症性サイトカインが、AS群の方が多かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今日のASのほとんどは石灰化ASであり、その基本病態である石灰化による弁の硬化の危険因子は冠動脈疾患、すなわち動脈硬化の危険因子とほとんど重複しているが、実際の石灰化AS患者においてはASと動脈硬化の程度がかい離していることも多く、未だ同定されていない因子がASの発症や進行に大きく関与している可能性が高い。本研究の結果から、ASの発症にDNA損傷が関与している可能性があり、新たな治療標的になり得る可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Although it is known that calcific aortic stenosis (AS) shares risk factors with atherosclerotic cardiovascular disease, many patients without those risk factors develop AS. Recent studies have shown that persistent activation of DNA damage response is required for senescence-associated secretory phenotype. This study aimed to examine the role of DNA damage in the development of AS. Peripheral mononuclear cells (MNCs) were isolated from patients with AS. Expression of gamma-H2AX was measured by immunofluorescence, and dicentric chromosomes (DICs) were assayed using a fluorescent in situ hybridization technique. The numbers of gamma-H2AX foci and DICs were higher in the MNCs from AS patients than those from control subjects. The mRNA expressions of inflammatory cytokines were increased in MNCs from AS compared to those from control subjects. DNA damage may be involved in the mechanism underlying the progression of AS.

研究分野：循環器内科

キーワード：DNA損傷

1. 研究開始当初の背景

近年の統計によると、75歳以上の12%が大動脈弁狭窄症(AS)を有している。また平均年齢54歳の集団で10%、平均年齢81歳の集団で42%が狭窄はないものの大動脈弁が硬化しているという。このようにASは典型的な加齢関連疾患のひとつであり、社会の高齢化にともない患者も増加の一途をたどっている。今日のASのほとんどは石灰化ASであるが、その基本病態である石灰化による弁の硬化の危険因子として加齢の他、男性、脂質異常、糖尿病/メタボリック症候群、高血圧、喫煙などが知られている。これらはすべて冠動脈疾患、すなわち動脈硬化の危険因子でもあるが、実際の石灰化AS患者においてはASと動脈硬化の程度がかい離していることも多く、未だ同定されていない因子がASの発症や進行に大きく関与している可能性が高い。細胞老化を誘導する主な原因の一つにDNA損傷がある。DNAが損傷を受けると『DNA損傷応答』という広汎な反応が惹起される。この応答によりほとんどのDNA損傷は修復されるが、修復しきれずに損傷が蓄積したり、一度に大量のDNA損傷が生じると、アポトーシスや細胞老化が誘導される。これらはがん化を予防するメカニズムと考えられているが、近年DNA損傷によって老化した細胞が種々のタンパクを分泌するsenescence-associated secretory phenotype(SASP)という現象が、慢性炎症や老化、そしてむしろがんを促進させる機序であることが示唆されている。

2. 研究の目的

DNA損傷と細胞老化の間に生じる悪循環が加齢関連疾患の発症に関与している可能性がある。本研究は、大動脈弁を形成する細胞においてDNA損傷・DNA損傷応答により細胞老化が誘発され、SASP因子が分泌され、これらの一連の現象により、炎症や骨芽細胞系への分化転換が惹起されることにより石灰化ASが発症・進展する、という仮説を検証することを目的とする。

3. 研究の方法

AS患者の末梢血より単核球を分離し、以下のDNA損傷の定量を行う。i) gamma-H2AX:二本鎖切断などDNA切断の指標として測定する。免疫蛍光法にて核内のgamma-H2AXのフォーカスを描出し、1細胞あたりのフォーカス数を算出する。ii) 二動原体染色体:FISHを用いて二本鎖切断に基づく異常染色体を検出する。本アッセイは、DNA修復能も反映する。2 ASの重症度を心エコーおよび心臓カテーテル検査による圧較差にて評価する。加えて大動脈弁の肥厚と石灰化をCTにて評価する。対照:age-matchさせたASを有さない心血管疾患患者およびボランティアの健常者。以上のデータを用いて、DNA損傷とASの重症度との関連を検討する。

4. 研究成果

重症AS患者より、末梢血を採取、単核球を分離し、DNA二本鎖切断の指標として核内のgamma-H2AXのフォーカスを免疫蛍光法にて描出し、1細胞あたりのフォーカス数を算出した。またFISHを用いて二本鎖切断に基づく異常染色体として二動原体染色体を検出した。AS群は非AS群に比して、DNA損傷が多かったが、男性に比して女性においてその傾向が強かった。また単

核球中のいくつかの炎症性サイトカインは、AS 群の方が多かった。

また、TAVI 前後の CT の解析により、術前の大動脈弁(特に無冠尖)の Ca ボリュームが TAVI 後の Paravalvular leakage 発生の予測因子であることが明らかになった(カットオフ値 2.3 mL による ROC カーブ: AUC 0.75, sensitivity 0.75, specificity 0.63)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kimishima Yusuke, Misaka Tomofumi, Yokokawa Tetsuro, Wada Kento, Ueda Koki, Sugimoto Koichi, Minakawa Keiji, Nakazato Kazuhiko, Ishida Takafumi, Oshima Motohiko, Koide Shuhei, Shide Kotaro, Shimoda Kazuya, Iwama Atsushi, Ikeda Kazuhiko, Takeishi Yasuchika	4. 巻 12
2. 論文標題 Clonal hematopoiesis with JAK2V617F promotes pulmonary hypertension with ALK1 upregulation in lung neutrophils	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 6177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-26435-0	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 -

1. 著者名 Yokokawa Tetsuro, Misaka Tomofumi, Kimishima Yusuke, Wada Kento, Minakawa Keiji, Sugimoto Koichi, Ishida Takafumi, Morishita Soji, Komatsu Norio, Ikeda Kazuhiko, Takeishi Yasuchika	4. 巻 106
2. 論文標題 Crucial role of hematopoietic <i>JAK2</i> V617F in the development of aortic aneurysms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Haematologica	6. 最初と最後の頁 1910 ~ 1922
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2020.264085	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 -

1. 著者名 Oikawa Masayoshi, Yaegashi Daiki, Yokokawa Tetsuro, Misaka Tomofumi, Sato Takamasa, Kaneshiro Takashi, Kobayashi Atsushi, Yoshihisa Akiomi, Nakazato Kazuhiko, Ishida Takafumi, Takeishi Yasuchika	4. 巻 8
2. 論文標題 D-Dimer Is a Predictive Factor of Cancer Therapeutics-Related Cardiac Dysfunction in Patients Treated With Cardiotoxic Chemotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Cardiovascular Medicine	6. 最初と最後の頁 807754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcvm.2021.807754	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 -

1. 著者名 Akama Joh, Shimizu Takeshi, Ando Takuya, Anzai Fumiya, Muto Yuuki, Kimishima Yusuke, Kiko Takatoyo, Yoshihisa Akiomi, Yamaki Takayoshi, Kunii Hiroyuki, Nakazato Kazuhiko, Ishida Takafumi, Takeishi Yasuchika	4. 巻 63
2. 論文標題 Prognostic Value of the Pattern of Non-Adherence to Anti-Platelet Regimen in Stented Patients (PARIS) Bleeding Risk Score for Long-Term Mortality After Percutaneous Coronary Intervention	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Heart Journal	6. 最初と最後の頁 15~22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1536/ihj.21-440	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 -

1. 著者名 Imano Nobuki, Nishibuchi Ikuno, Kawabata Emi, Kinugasa Yasuha, Shi Lin, Sakai Chiemi, Ishida Mari, Sakane Hiroaki, Akita Tomoyuki, Ishida Takafumi, Kimura Tomoki, Murakami Yuji, Tanaka Kimio, Horikoshi Yasunori, Sun Jiying, Nagata Yasushi, Tashiro Satoshi	4. 巻 195
2. 論文標題 Evaluating Individual Radiosensitivity for the Prediction of Acute Toxicities of Chemoradiotherapy in Esophageal Cancer Patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Radiation Research	6. 最初と最後の頁 244-252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1667/RADE-20-00234.1	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 -

1. 著者名 Hijioka Naoko, Kaneshiro Takashi, Nehashi Takeshi, Amami Kazuaki, Nodera Minoru, Yamada Shinya, Kamioka Masashi, Ishida Takafumi, Takeishi Yasuchika	4. 巻 22
2. 論文標題 Procedural characteristics of pulmonary vein isolation with high-power short-duration setting compared to conventional setting	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Cardiovascular Disorders	6. 最初と最後の頁 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12872-022-02459-2	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 -

1. 著者名 Yamada Shinya, Yoshihisa Akiomi, Hijioka Naoko, Amami Kazuaki, Kaneshiro Takashi, Ishida Takafumi, Takeishi Yasuchika	4. 巻 60
2. 論文標題 Associations of the Prognostic Nutritional Index with the Cardiac Function and Survival after Cardiac Resynchronization Therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 985~991
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.5961-20	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 -

1. 著者名 Sakane Hiroaki, Ishida Mari, Shi Lin, Fukumoto Wataru, Sakai Chiemi, Miyata Yoshihiro, Ishida Takafumi, Akita Tomoyuki, Okada Morihito, Awai Kazuo, Tashiro Satoshi	4. 巻 295
2. 論文標題 Biological Effects of Low-Dose Chest CT on Chromosomal DNA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Radiology	6. 最初と最後の頁 439 ~ 445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1148/radiol.2020190389	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 -

1. 著者名 Yaegashi Daiki, Oikawa Masayoshi, Yokokawa Tetsuro, Misaka Tomofumi, Kobayashi Atsushi, Kaneshiro Takashi, Yoshihisa Akiomi, Nakazato Kazuhiko, Ishida Takafumi, Takeishi Yasuchika	4. 巻 7
2. 論文標題 Red Blood Cell Distribution Width Is a Predictive Factor of Anthracycline-Induced Cardiotoxicity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cardiovascular Medicine	6. 最初と最後の頁 594685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcvm.2020.594685	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 -

1. 著者名 Oikawa Masayoshi, Yoshihisa Akiomi, Yokokawa Tetsuro, Misaka Tomofumi, Yaegashi Daiki, Miyata Makiko, Nakazato Kazuhiko, Ishida Takafumi, Takeishi Yasuchika	4. 巻 98
2. 論文標題 Cardiac Troponin I Predicts Elevated B-type Natriuretic Peptide in Patients Treated with Anthracycline-Containing Chemotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology	6. 最初と最後の頁 653 ~ 660
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000507585	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 -

1. 著者名 Yamada Shinya, Yoshihisa Akiomi, Hijioka Naoko, Kamioka Masashi, Kaneshiro Takashi, Yokokawa Tetsuro, Misaka Tomofumi, Ishida Takafumi, Takeishi Yasuchika	4. 巻 25
2. 論文標題 Autonomic dysfunction in cardiac amyloidosis assessed by heart rate variability and heart rate turbulence	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Noninvasive Electrocardiology	6. 最初と最後の頁 e12749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/anec.12749	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 -

1. 著者名 Sato Yu, Yoshihisa Akiomi, Hotsuki Yu, Watanabe Koichiro, Kimishima Yusuke, Kiko Takatoyo, Kanno Yuki, Yokokawa Tetsuro, Abe Satoshi, Misaka Tomofumi, Sato Takamasa, Oikawa Masayoshi, Kobayashi Atsushi, Yamaki Takayoshi, Kunii Hiroyuki, Nakazato Kazuhiko, Ishida Takafumi, Takeishi Yasuchika	4. 巻 9
2. 論文標題 Associations of Benzodiazepine With Adverse Prognosis in Heart Failure Patients With Insomnia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e013982
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.119.013982	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 -

1. 著者名 Jin Yuichiro, Yaegashi Daiki, Shi Lin, Ishida Mari, Sakai Chiemi, Yokokawa Tetsuro, Abe Yu, Sakai Akira, Yamaki Takayoshi, Kunii Hiroyuki, Nakazato Kazuhiko, Hijioka Naoko, Awai Kazuo, Tashiro Satoshi, Takeishi Yasuchika, Ishida Takafumi	4. 巻 63
2. 論文標題 DNA Damage Induced by Radiation Exposure from Cardiac Catheterization	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Heart Journal	6. 最初と最後の頁 466 ~ 475
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1536/ihj.22-037	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 -

1. 著者名 Oikawa Masayoshi, Ishida Takafumi, Takeishi Yasuchika	4. 巻 81
2. 論文標題 Cancer therapeutics-related cardiovascular dysfunction: Basic mechanisms and clinical manifestation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 253 ~ 259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2022.04.006	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Ueda Keitaro, Sakai Chiemi, Ishida Takafumi, Morita Kosuke, Kobayashi Yusuke, Horikoshi Yasunori, Baba Akiko, Okazaki Yuma, Yoshizumi Masao, Tashiro Satoshi, Ishida Mari	4. 巻 137
2. 論文標題 Cigarette smoke induces mitochondrial DNA damage and activates cGAS-STING pathway: application to a biomarker for atherosclerosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical Science	6. 最初と最後の頁 163 ~ 180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/CS20220525	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 -

1. 著者名 Ishida Mari, Sakai Chiemi, Ishida Takafumi	4. 巻 81
2. 論文標題 Role of DNA damage in the pathogenesis of atherosclerosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 331 ~ 336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2022.08.010	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Sakane Hiroaki, Ishida Mari, Shi Lin, Fukumoto Wataru, Sakai Chiemi, Miyata Yoshihiro, Ishida Takafumi, Akita Tomoyuki, Okada Morihito, Awai Kazuo, Tashiro Satoshi	4. 巻 295
2. 論文標題 Biological Effects of Low-Dose Chest CT on Chromosomal DNA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Radiology	6. 最初と最後の頁 439 ~ 445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1148/radiol.2020190389	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 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 石田隆史
2. 発表標題 DNA損傷と心血管疾患
3. 学会等名 第20回日本抗加齢医学会総会 シンポジウム14「病態における酸化ストレス研究の最前線」(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石田隆史
2. 発表標題 医療放射線被ばくの人体影響評価
3. 学会等名 第2回 放射線災害・医科学研究拠点 ワークショップ(招待講演)
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
研究 分担 者	石田 万里 (Ishida Mari) (30359898)	広島大学・医系科学研究科(医)・准教授 (15401)	

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