

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17732

研究課題名(和文)大動脈解離に特異的な免疫複合体の同定と臨床応用の探求

研究課題名(英文) Identification of immune complexes specific for aortic dissection and exploration of clinical applications

研究代表者

中尾 英智 (Nakao, Eichi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：80869545

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)：申請者らはこれまでに、正常大動脈組織ではみられなかった免疫グロブリン(IgG)が、大動脈解離組織では局所に沈着し、IgG投与で解離による破裂死が促進されることを発見した。また、血管内皮機能の低下及び炎症応答に細胞老化が関与しているとの報告から、細胞老化による血管内皮バリア機能低下が大動脈壁へのIgGが沈着を来し、液性免疫及び老化細胞による炎症応答が解離増悪に關与するという仮説を着想した。解離大動脈組織には内皮細胞を初めとする種々の老化細胞を認め、老化細胞除去薬(ABT263)投与により解離重症化及び破裂死が抑制された。遺伝子解析ではABT263投与により、免疫応答及び炎症応答が抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大動脈解離の分子病態は未だ不明な点も多く、発症予測、予防、発症後の進展予防の開発のために病態解明が急がれる。近年、動脈硬化や心不全を初めとする様々な疾患における細胞老化の関与が注目されており、老化細胞に対する治療薬やワクチンの研究も進められている。本研究において、老化細胞が解離増悪に寄与しており、さらに炎症応答及び免疫応答に關与することが示唆された。老化細胞による解離増悪メカニズムが解明されることで、将来的に臨床現場において解離増悪を抑制する治療として応用できる可能性が期待される。

研究成果の概要(英文)：Our team discovered that immunoglobulin (IgG) was not found in normal aortic tissue though, in dissection tissue it was locally deposited, and IgG promoted rupture death due to aortic dissection (AD). And it was reported that cellular senescence was involved in the dysfunction of vascular endothelial cells and inflammatory response. We hypothesized that the dysfunction of vascular endothelial barrier due to cellular senescence caused IgG deposition into the aortic wall, and that humoral immunity and inflammatory response by senescent cells contributed to AD development and progression. Various senescent cells, including endothelial cells, were found in AD tissue, and administration of ABT263 that eliminates senescent cells prevented severe dissection and rupture death. Genetic analysis showed that administration of ABT263 suppressed immune and inflammatory responses.

研究分野：大動脈解離

キーワード：大動脈解離 IgG フィブリノーゲン 内皮細胞 細胞老化

1. 研究開始当初の背景

大動脈解離は働き盛りの50歳代以上で好発する突発的かつ致死的な疾患である。急性期、慢性期のいずれでも治療法は外科的手法に限られ、内科的には安静や降圧療法が行われるが、大動脈壁破壊を制御する方法は存在しない。大動脈解離の分子病態は未だ不明な点も多く、発症予測、予防、発症後の進展予防の開発のために病態解明が急がれる。申請者らのチームでは、大動脈瘤において免疫グロブリン (IgG) が大動脈壁破壊を促進することを見出し (Furusho, J Am Heart Assoc. 2018)、大動脈組織破壊に免疫機序が関与することが示唆された。免疫機序が解離病態に関与する可能性を検討するために、解離モデルの大動脈組織で IgG の免疫染色を行った。正常大動脈組織では IgG 沈着はみられなかったが、解離刺激後の大動脈組織では IgG の局所沈着を認めた (図1)。そして B 細胞欠損マウス (μ MT マウス) では解離進行・破裂死が抑制され、IgG 投与により解離死が促進された (図2)。これらの事実から解離病態と液性免疫の関連が示唆されるが、解離病態における液性免疫の意義は不明である。

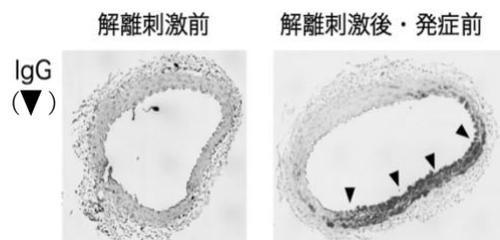


図1. 解離発症前の大動脈には免疫グロブリンが沈着する。

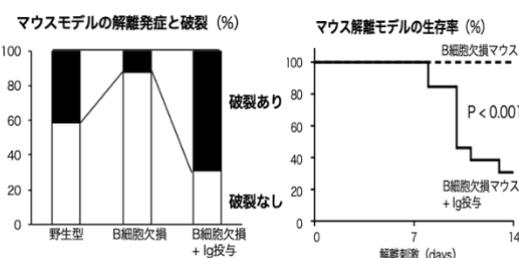


図2. 液性免疫 (B 細胞、免疫グロブリン) は解離死を促進する。

2. 研究の目的

解離病態における炎症応答の重要性は報告されているが、炎症応答のトリガーやメカニズムに関しては未解明である。解離患者では大動脈壁成分エラスチンに対する自己抗体が出現し (Gu, J Am Heart Assoc. 2019)、リンパ球制御分子 LNK のノックアウトマウスでは B 細胞過剰増殖により解離が増悪することが報告されている (Laroumanie, JCI Insight 2018)。申請者らは、予備検討の結果や既知から、解離病態における液性免疫がこの炎症応答に寄与する可能性を見出した。申請者らのチームでは、解離発症前のマウス大動脈にて、血液成分が漏出することを発見した (図3)。さらに、血管内皮機能低下の原因として細胞老化の関与が報告されており、老化細胞により炎症が惹起されることも示されている (Morishita, JAAM. 2010)。以上の知見から、申請者は細胞老化により大動脈内皮細胞のバリア機能が低下し、大動脈壁内へ IgG が沈着することによる液性免疫の機序と老化細胞による炎症応答を介して解離増悪を来すとの仮説を着想した。本研究では、まずは解離病態において細胞老化が関与することを明らかにし、それによる液性免疫と炎症応答に着目した病態解明を目指す。

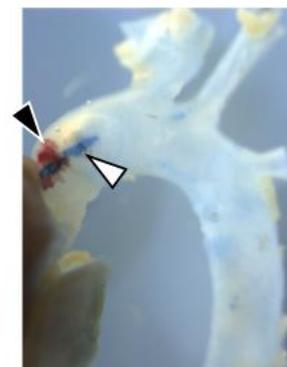


図3. 解離刺激後1日目には内皮バリア機能が低下し、灌流したエバンスブルーの漏出 (白矢印) と壁内出血 (黒矢印) が認められた。

3. 研究の方法

コラーゲン架橋酵素阻害剤 BAPN とアンジオテンシン II (Ang II) の持続皮下注投与することにより、2週間の経過で解離発症・進展を観察できるマウス解離モデルを用いた。マウス解離組織に

における老化細胞の発現を観察し、老化細胞除去薬投与による解離フェノタイプを検証した。

4. 研究成果

マウス解離モデルにおいて、老化細胞を SA β -gal 染色により観察した。正常大動脈では老化細胞が認められなかったのに対し、解離刺激を加えた大動脈組織では解離発症前から発症後まで内膜・中膜・外膜に老化細胞が出現していた。さらにその老化細胞の細胞種を同定すべく、SA β -gal 染色と細胞マーカーの共染色を行った。その結果、老化細胞は老化した内皮細胞・平滑筋細胞・線維芽細胞・マクロファージであることがわかった (図 4)。

さらに、老化細胞が解離病態に及ぼす影響を検証すべく、マウス解離モデルにおいて老化細胞除去薬 (ABT263) を投与した。Vehicle 群と比較して、ABT263 投与群では解離重症度が抑制され、大動脈破裂による死亡率も低下した (図 5)。これらの結果から、細胞老化が解離増悪において重要な役割を果たすことが示唆された。

さらに老化細胞による解離増悪メカニズムを探るべく、遺伝子発現を解析した。トランスクリプトーム解析では Vehicle 群と比較して、ABT263 群では免疫応答および炎症応答が抑制されており、リアルタイム PCR アレイでは老化マーカー (Cdkn1a)・炎症性サイトカイン (IL-6)・ケモカイン (CXCL10)・破壊型マクロファージ細胞マーカー (CD80) の遺伝子発現が解離刺激で増加し、ABT263 により減少した。

まとめ

マウス解離組織において、老化細胞の発現がみられ、その細胞種は内皮細胞・平滑筋細胞・線維芽細胞・マクロファージであった。さらに、老化細胞除去薬 (ABT263) 投与により解離重症化および解離による死亡率が抑えられた。遺伝子発現からは、老化細胞による免疫応答及び炎症応答を介した解離増悪の機序が推察される。老化細胞に対する治療薬やワクチンの研究も進められる中、老化細胞による解離増悪メカニズムが解明されることで、臨床現場において解離増悪を抑制する治療として応用できる可能性がある。また、当初研究課題として挙げていた内皮バリア機能低下については未解明であり、今後の研究課題とする予定である。

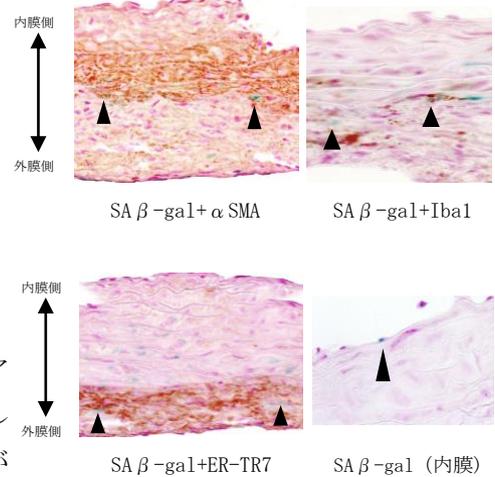


図 4. 解離大動脈組織に種々の老化細胞の発現を認めた (SA β -gal 陽性細胞: 黒矢印)。

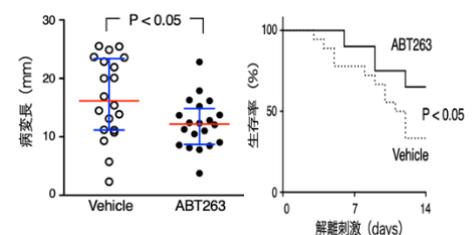


図 5. 老化細胞除去薬 ABT263 は解離重症度と予後を改善する。

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 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 1, 20
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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 E. Nakao
2. 発表標題 The role of cellular senescence in aortic dissection.
3. 学会等名 ESC CONGRESS 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 E. Nakao
2. 発表標題 The role of cellular senescence in aortic dissection.
3. 学会等名 AHA Scientific Sessions 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中尾英智
2. 発表標題 大動脈解離病態における老化細胞の関与
3. 学会等名 第130回 日本循環器学会九州地方会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 西田憲史, 中尾英智, 橋本洋平, 眞島涼平, 伊東壮平, 青木浩樹	4. 発行年 2021年
2. 出版社 株式会社エル・イ・シー LIC	5. 総ページ数 594
3. 書名 モデル動物の作製と利用-循環器疾患2021 上巻	

〔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
---------	---------