

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591094

研究課題名(和文) 心筋障害ストレスに対する心筋保護機構：SOC3による細胞内シグナル調節の視点から

研究課題名(英文) Cardioprotection mechanism against stress-induced cardiac injury: analysis based on the regulation of signal transduction by SOCS

研究代表者

安川 秀雄 (Yasukawa, Hideo)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：60289361

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：虚血再灌流心筋障害モデルやドキシソルビシン心筋障害モデルにおいて、心筋特異的SOCS3欠損マウス(SOCS3-CKO)の心筋障害が抑制されることを見いだした。その機序として、細胞死であるアポトーシス関連遺伝子群とミトコンドリア機能やエネルギー代謝に関わる遺伝子群が重要であることも明らかになった。本研究によって、虚血や薬剤などの障害ストレスによる心筋保護機構に、JAK-STAT3経路の負の制御因子であるSOCS3が重要であることが示された。今後、心筋のSOCS3が急性心筋梗塞や梗塞後心不全の新しい治療標的となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We found that cardiac injury and dysfunction after ischemia-reperfusion or doxorubicin administration were prevented in cardiac-specific gene knockout (KO) mice of SOCS3 (suppressor of cytokine signaling-3). To investigate the mechanism for the prevention of cardiac injury and dysfunction after ischemia-reperfusion or doxorubicin administration in cardiac-specific SOCS3-KO mice, we conducted microarray analysis. Microarray analysis revealed that apoptosis related genes and mitochondria and energy metabolism related genes were important for this prevention in SOCS3-KO mice. These results suggest that SOCS3, which is a negative regulator of Jak-STAT3 signaling pathway, is important for cardioprotection against stress-induced myocardial injury. SOCS3 may be a promising therapeutic target for acute myocardial infarction and heart failure.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：循環器内科学・分子心臓病態学

キーワード：心筋障害 サイトカイン JAK-STAT3 SOCS3 ミトコンドリア

## 1. 研究開始当初の背景

心不全の予後は依然として不良である。虚血、圧負荷、感染や薬剤などのストレスによって障害を受けた心筋はレニンアンジオテンシン系などの神経体液因子を活性化し、また、心肥大、心拡大や線維化などの心筋リモデリングを誘発し、結果として心不全の要因となる。したがって、心不全発症を予防するためには、これらのストレス環境における心筋障害を抑制することが重要であり、ストレスに対する心筋保護機構を明らかにし、新たな治療標的・手段を見いだすことが求められている。Erythropoietin (EPO)などのサイトカインが、虚血や薬剤による心筋障害を抑制することが報告されている。これらのサイトカインは JAK 経路を活性化する。即ち、JAK 経路は心筋保護において極めて重要である。また、動物モデルではこれらのサイトカインの効果が明らかである一方で、臨床研究ではこれらのサイトカインの急性心筋梗塞後の心機能に対する効果は一定していない。したがって、サイトカインが無効であるメカニズム、すなわち、サイトカイン耐性の機序を明らかにすることも重要と考えられる。

## 2. 研究の目的

心筋特異的 SOCS3 ノックアウトマウス (SOCS3-CKO) を用いて、心筋の SOCS3 抑制による心筋保護機構の詳細な解析を行うことが本研究の目的である。

## 3. 研究の方法

(1) 心筋細胞の SOCS 抑制による心筋保護機構について、特に、アポトーシス、ミトコンドリア障害、酸化ストレス、DNA 障害などの関与について解析を進める。

(2) 急性心筋梗塞などの心筋障害モデルを作成した SOCS3-CKO に EPO もしくは G-CSF を投与し、心筋の SOCS3 抑制がサイトカインの心筋保護効果を促進することができるかどうかを明らかにする。

(3) JAK 阻害因子である SOCS1 と SOCS3 を欠損するマウス (SOCS1/3-CKO) を作成し、これらの心筋特異的重複欠損マウスにおいて心筋保護効果を促進するかどうかを明らかにする。

(4) 急性心筋梗塞モデルを作成した SOCS3-CKO にマイクロアレイ解析を行い、虚血時の心筋の SOCS3 抑制による遺伝子発現を

明らかにする。

(5) 急性心筋梗塞モデルを作成した SOCS3-CKO にマイクロ RNA (miRNA) アレイ解析を行い、虚血時の心筋の SOCS3 抑制によって制御される miRNA を明らかにする。

(6) 上記のマイクロアレイと miRNA アレイによって同定される遺伝子について、その心筋保護に対する効果を培養心筋細胞を用いて解析する。特に重要であると考えられる遺伝子についてはノックアウトマウスの作成について検討する。

## 4. 研究成果

心筋特異的 SOCS3 ノックアウトマウス (SOCS3-CKO) にこれらのモデルを作成し、循環生理学的解析、生化学的解析、組織学的解析等を行い、これらの病態における JAK-STAT 経路と SOCS3 の役割について検討した。いずれのモデルにおいても、STAT3 を活性化するサイトカイン (IL-6, LIF, G-CSF など) の発現が心臓で高度に発現していた。STAT3 のリン酸化と SOCS3 の発現もこれらのモデルで観察され、SOCS3-CKO ではコントロールマウスと比較し、心筋梗塞後リモデリング、虚血再灌流心筋障害、エンドトキシンによる急性心不全が優位に抑制された。野生型マウスでは、再灌流3時間後に SOCS3 の発現を認め 24 時間後まで持続していた。SOCS3 の発現と逆相関するように STAT3 の活性化は抑制されていた。SOCS3-CKO マウスの心臓では再灌流後の STAT3 の活性化が遷延増強していた。SOCS3-CKO マウスの心臓では、TUNEL 染色により評価した心筋アポトーシスが野生型マウスに比べ優位に抑制されていた。アポトーシス関連分子のなかで、Bcl2 ファミリーのアポトーシス抑制遺伝子 Mcl-1 の発現亢進を SOCS3-CKO マウスにおいて認めた。SOCS3-CKO マウスにおいて虚血再灌流後の心筋障害が抑制される機序をさらに明らかにするためにマイクロアレイ解析を行った。その結果、細胞周期に関連する遺伝子群、炎症反応に関連する遺伝子群、さらには細胞外刺激に反応し創傷治癒に関連する遺伝子群が、野生型マウスと比較し SOCS3-CKO マウスにおいて異なって発現調節を受けていることが明らかとなった。細胞周期に関連する遺伝子群には Ccna2, Ccnb2, Cdc7, Cdc23, Cdca5, Cdkn3, Top2a などが含まれ、炎症反応に関連する遺伝子群には Nfkb2, Relb, I11b, I16, Nfkb1a などが含まれていた。細胞周期に関連

する遺伝子の役割は不明であるが、SOCS3-CKO マウスにおいて虚血再灌流後の心筋障害が抑制される機序に炎症経路の活性化の変化が深く関わっている可能性が示唆された。SOCS3-CKO マウスにおいて、ドキシソルピシンによる心筋障害が抑制される機序を明らかにするためにマイクロアレイ解析を行った。野生型マウスではドキシソルピシンによる心筋障害によって発現が低下する遺伝子の中で、ミトコンドリア機能やエネルギー代謝に関わる遺伝子群がSOCS3-CKOの心臓において発現が優位に保たれていることが明らかとなった。マイクロアレイ解析の結果より、心筋のSOCS3が欠失することにより、SOCS3によって負に制御されるJAK-STAT3経路の活性化が増強遷延化し、ミトコンドリア機能やエネルギー代謝に関わる遺伝子群の発現が保持され、結果としてドキシソルピシンによる心筋障害が抑制されることが明らかとなった。また、虚血再灌流心筋障害マウスに心筋保護効果を有するEPOを投与したところ、野生型マウスに比べ、SOCS3-CKOマウスでは、心筋梗塞が優位に抑制されていた。この結果は、心筋のSOCS3が欠失することにより、心筋保護を有するサイトカインの効果を増強できることを示している。

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計20件)

1. Kataoka Y, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Enomoto T, Uemura Y, Ogura Y, Yuasa D, Matsuo K, Nagata T, Oba T, Yasukawa H, Numaguchi Y, Sone T, Murohara T, Ouchi N. Omentin prevents myocardial ischemic injury through AMPK- and Akt-dependent mechanisms. *J Am Coll Cardiol* 2014, in press 査読・有
2. Yasukawa H, Oba T, Fukumoto Y. Alterations in Coxsackievirus and Adenovirus Receptor (CAR) Confer Susceptibility to Ventricular Arrhythmia with an Ischemic Event. *J Am Coll Cardiol* 2013, 63: 560-562. 査読・有
3. Suda K, Kishimoto S, Nishino H, Takahashi, T, Okamura H, Teramachi Y, Yokoyama T, Yasukawa H, Imaizumi T, Matsuishi T. Involvement of circulating myeloid dendritic cells in the pathogenesis of acute Kawasaki disease in human. *J Clin Exp Cardiology* 2013, 4:272 doi: 10.4172/2155-9880.1000272 査読・有
4. Koike K, Ueda S, Yamagishi S, Yasukawa H, Kaida Y, Yokoro M, Fukami K, Yoshimura A, Okuda S. *Clin Immunol* 2013, 150: 78-87. 査読・有
5. Mawatari K, Yasukawa H, Oba T, Nagata T, Togawa T, Tsukimura T, Kyogoku S, Ohshima H, Minami T, Sakubaba H, Imaizumi T. Screening for Fabry disease in patients with left ventricular hypertrophy. *Int J Cardiol* 167: 1059-1061, 2013 査読・有
6. Yasukawa H, Nagata T, Oba T, Imaizumi T. SOCS3: a novel therapeutic target for cardioprotection. *Jak-Stat* 1: 234-240, 2012 査読・有
7. Yoshimura A, Yasukawa H. JAK's SOCS: A Mechanism of Inhibition. *Immunity* 36:157-159, 2012. 査読・有
8. Yoshimura A, Suzuki M, Sakaguchi R, Hanada T, Yasukawa H. SOCS, inflammation, and autoimmunity. *Front Immunol* 2012;3;20 doi: 10.3389/fimmu.2012.00020 査読・有
9. Fukui D, Yasukawa H, Sugi Y, Nagata T, Kyogoku S, Futamata N, Oba T, Yokoyama T, Yokoyama S, Ueno T, Kage M, Imaizumi T. Transient reduction and activation of circulating dendritic cells in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 160: 216-219, 2012 査読・有
10. Ohmura H, Yasukawa H, Minami T, Sugi Y, Oba T, Nagata T, Kyogoku S, Ohshima H, Aoki H, Imaizumi T. Cardiomyocyte-specific transgenic expression of lysyl oxidase-like protein-1 induces cardiac hypertrophy in mice. *Hypertens Res* 2012, 35: 1063-1068. 査読・有
11. Oba T, Yasukawa H, Hoshijima M, Sasaki KI, Futamata N, Fukui D, Mawatari K, Nagata T, Kyogoku S, Ohshima H, Minami

- T, Nakamura K, Kang D, Yajima T, Knowlton KU, Imaizumi T. Cardiac-Specific Deletion of SOCS-3 Prevents Development of Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 59:838-852, 2012. 査読・有
12. 安川秀雄、京極幸子、永田隆信、今泉勉：炎症シグナルと心血管リモデリング『特集 炎症・免疫からみた心血管病』。循環器内科 69(6), 600-606, 2011 査読・無
  13. Fukaya T, Suzuki M, Sakaguchi R, Yasukawa H, Yoshimura A. Role of SOCS proteins in inflammation and autoimmune diseases. *Inflamm Regen*. 2011;31:382-392. 査読・無
  14. Yajima T, Murofushi Y, Zhou H, Park S, Housman J, Zhong ZH, Nakamura M, Machida M, Hwang KK, Gu Y, Dalton ND, Yajima T, Yasukawa H, Peterson KL, Knowlton KU. Absence of SOCS3 in the cardiomyocyte increases mortality in a gp130 dependent manner accompanied by contractile dysfunction and ventricular arrhythmias. *Circulation* 2011;124:2690-2671. 査読・有
  15. Mizoguchi, M, Tahara N, Tahara A, Nitta Y, Kodama N, Oba T, MD, Mawatari K, Yasukawa H, Kaida H, Ishibashi M, Hayabuchi N, Harada H, MD, Ikeda H, Yamagishi S, Imaizumi T. Pioglitazone Attenuates Atherosclerotic Plaque Inflammation in Impaired Glucose Tolerant or Diabetic Patients in a Glucose-Lowering Independent Manner - A Prospective, Randomized, Comparator-controlled Study Using Serial FDG-PET/CT -. *JACC Cardiovasc Imaging* 4:1110-1118, 2011 査読・有
  16. Tamiya T, Kashiwagi I, Takahashi R, Yasukawa H, Yoshimura A. Suppressors of Cytokine Signaling (SOCS) Proteins and JAK/STAT Pathways: Regulation of T-Cell Inflammation by SOCS1 and SOCS3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 31:980-5. 2011 査読・有
  17. Hiwatashi K, Tamiya T, Hasegawa E, Fukaya T, Hashimoto M, Kakoi K, Kashiwagi I, Kimura A, Inoue N, Morita R, Yasukawa H, Yoshimura A. Suppression of SOCS3 in macrophages prevents cancer metastasis by modifying macrophage phase and MCP2/CCL8 induction. *Cancer Lett*. 308:172-80. 2011 査読・有
  18. Metlakunta A, Sahu M, Yasukawa H, Dhillon S, Belsham D, Yoshimura A, Sahu A: Neuronal suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS3) deficiency enhances hypothalamic leptin dependent phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) signaling. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 300:R1185-R1193. 2011 査読・有
  19. Nanjo Y, Adachi H, Hirai Y, Enomoto M, Fukami A, Otsuka M, Yoshikawa K, Yokoi K, Ogata K, Tsukagawa E, Kasahara A, Murayama K, Yasukawa H, Kojima M, Imaizumi T. Factors Associated with Plasma Ghrelin Level in Japanese General Population. *Clin Endocrinol* 74:453-458. 2011 査読・有
  20. Sugi Y, Yasukawa H, Kai H, Fukui D, Futamata N, Mawatari K, Oba T, Nagata N, Kyougoku S, Koga M, Imaizumi T: Reduction and activation of circulating dendritic cells in patients with decompensated heart failure. *Int J Cardiol* 1472:258-64. 2011 査読・有
- 〔学会発表〕(計 16 件)
1. Mawatari K, Yasukawa H, Oba T, Nagata T, Kyogoku S, Ohshima H, Minami T, Sugi Y, Imaizumi T: Screening for Fabry Disease in Patients with Left Ventricular Hypertrophy. 第 17 回日本心不全学会学術集会 2013 年 11 月 28~30 日 埼玉
  2. Yasukawa H: Important role of renal nerve-mediated erythropoietin production in the cardioprotection during remote ischemic preconditioning. 第 17 回日本心不全学会学術集会 2013 年 11 月 28~30 日 埼玉

- 玉
3. 安川 秀雄、大場 豊治、青木 浩樹、今泉 勉:腎神経を介した臓器連関による心筋保護機構 -Remote ischemic preconditioning の臓器保護メカニズム-。第16回日本心血管内分泌代謝学会 2012年11月24日 東京
  4. Kyogoku S, Yasukawa H, Nagata T, Oba T, Ohshima H, Minami T, Yajima T, Hoshijima M, Aoki H, Knowlton KU, Imaizumi T. Cardiac-Specific Deletion of Suppressor of Cytokine Signaling-3 Prevents Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy in Mice. The American Heart Association, The 85th Scientific Sessions, Los Angeles, USA, November 3-7, 2012
  5. Mawatari K, Tahara N, Yasukawa H, Oba T, Nagata T, Kyogoku S, Ohshima H, Minami T, Mizoguchi M, Sugi Y, Adachi H, Imaizumi T. Pioglitazone Decreases Plasma Fibroblast Growth Factor-21 Levels in Patients with Type 2 Diabetes. The American Heart Association, The 85th Scientific Sessions, Los Angeles, USA, November 3-7, 2012
  6. Kyogoku S, Yasukawa H, Nagata T, Oba T, Ohshima H, Minami T, Fukui D, Sugi Y, Aoki H, Imaizumi T: Prevention of Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy in Cardiac-Specific SOCS3 Deficient Mice by Preserving Energy Metabolism. 第29回 国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会総会 2012年10月26~27日; 福岡
  7. Ohshima H, Yasukawa H, Nagata T, Kyogoku S, Oba T, Mawatari K, Futamata N, Minami T, Sugi Y, Sasaki K, Imaizumi T: Impaired Angiogenesis During Hindlimb Ischemia in Skeletal Muscle-Specific STAT3 Deficient Mice. 第76回日本循環器学会 2012年3月16~18日; 福岡
  8. Oba T, Yasukawa H, Nagata T, Kyogoku S, Futamata N, Mawatari K, Minami T, Sugi Y, Fukui D, Aoki H, Imaizumi T: Activation of hypoxia inducible factor-erythropoietin pathway may prevent acute myocardial injury during remote ischemic preconditioning. 第76回日本循環器学会 2012年3月16~18日; 福岡
  9. Minami T, Yasukawa H, Nagata T, Oba T, Kyogoku S, Ohshima H, Aoki H, Yoshimura A, Imaizumi T: Prevention of Left Ventricular Remodeling after Acute Myocardial Infarction in Interleukin-17 Deficient Mice. 第76回日本循環器学会 2012年3月16~18日; 福岡
  10. 馬渡一寿、田原宣広、安川秀雄、大場豊治、二又誠義、永田隆信、京極幸子、大島英樹、南知子、溝口ミノリ、足達寿、今泉勉; Pioglitazone Decreases Plasma Fibroblast Growth Factor-21 Levels in Patients with Type 2 Diabetes. 第76回日本循環器学会 2012年3月16~18日; 福岡
  11. Ohshima H, Yasukawa H, Nagata T, Kyogoku S, Oba T, Mawatari K, Futamata N, Minami T, Sugi Y, Sasaki K, Imaizumi T: Impaired Angiogenesis During Hindlimb Ischemia in Skeletal Muscle-Specific STAT3 Deficient Mice. The American Heart Association, The 84th Scientific Sessions, Orlando, USA, November 12-17, 2011
  12. Oba T, Yasukawa H, Nagata T, Kyogoku S, Futamata N, Mawatari K, Minami T, Sugi Y, Fukui D, Aoki H, Imaizumi T: Activation of Hypoxia Inducible Factor-Erythropoietin Pathway May Prevent Acute Myocardial Injury During Remote Ischemic Preconditioning. The American Heart Association, The 84th Scientific Sessions, Orlando, USA, November 12-17, 2011
  13. Nagata T, Yasukawa H, Oba T, Pradervans S, Mawatari K, Kyogoku S, Ohshima H, Minami T, Sasaki K, Yajima T, Hoshijima M, Knowlton KU, Imaizumi T: Prevention

of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Cardiac-Specific SOCS3 Knockout Mice by Inhibiting Pro-inflammatory Pathways. The American Heart Association, The 84th Scientific Sessions, Orlando, USA, November12-17, 2011

14. Ohshima H, Yasukawa H, Nagata T, Kyogoku S, Oba T, Mawatari K, Futamata N, Sasaki K, Imaizumi T : Skeletal Muscle-Specific Deletion of STAT3 Impaired Angiogenesis During Hindlimb Ischemia. 第 75 回日本循環器学会 2011 年 8 月 3~4 日 ; 横浜

15. Kyogoku S, Yasukawa H, Oba T, Mawatari K, Nagata T, Ohshima H, Minami T, Imaizumi T : Cardiac-specific Deletion of SOCS-3 Prevents the Doxorubicin-Induced Cardiac Dysfunction in Mice. 第 75 回日本循環器学会 2011 年 8 月 3~4 日 ; 横浜

16. Nagata T, Yasukawa H, Oba T, Futamata N, Mawatari K, Kyogoku S, Ohshima H, , Imaizumi T : Prevention of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Cardiac-Specific SOCS3 Knockout Mice by Inhibiting Pro-inflammatory Pathways. 第 75 回日本循環器学会 2011 年 8 月 3~4 日 ; 横浜

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :

取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕  
ホームページ等  
www.kurume-shinzo.com  
www.med.kurume-u.ac.jp/med/kucri/

6 . 研究組織

(1)研究代表者  
安川秀雄 (Yasukawa Hideo)  
久留米大学・医学部・准教授  
研究者番号 : 60289361

(2)研究分担者  
( )

研究者番号 :

(3)連携研究者  
( )

研究者番号 :