

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 7 日現在

機関番号：11301  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23791012  
 研究課題名（和文）小胞体ストレス応答が血管モデリング・粥状動脈硬化に果たす役割の検討  
 研究課題名（英文）An investigation of ER stress response on vascular remodeling and atherosclerosis  
 研究代表者  
 高 俊弘（GAO JUNHONG）  
 東北大学・大学院医学系研究科・助教  
 研究者番号：70455781

## 研究果の概要（和文）：

本研究は小胞体ストレス応答の血管リモデリングと粥状動脈硬化に果たす役割の検討を目的にする。

WFS1 欠損マウスを中心とした解析から、血管リモデリングや粥状動脈硬化の発症・進展における小胞体ストレスの役割を明らかにし、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、マクロファージの各培養細胞における siRNA を用いた WFS1 ノックダウンの検討し、WFS1 発現抑制による生体内の小胞体ストレス応答を調節することによる動脈硬化に対する新規予防・治療法の可能性を探ることである。

## 研究成果の概要（英文）：

This study was intended to investigate the effect of stress response on vascular remodeling and atherosclerosis.

Using WFS1 KO mouse model, the role of WFS1 in the occurring and developing of vascular remodeling and atherosclerosis was proved. We also examined the effects of decreased WFS1 expression on ER stress responses in macrophages as well as SMC and endothelial cell lines *in vitro*. This study provides useful information for developing new treatment method of atherosclerosis.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

## 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：動脈硬化、メタボリックシンドローム、小胞体ストレス、糖尿病

## 1. 研究開始当初の背景

インスリン抵抗性は糖尿病、脂質代謝異常、高血圧に代表にされる様々な疾患の病態基盤となっており、こうした代謝異常の重積は

メタボリックシンドロームとして概念化され、動脈硬化に代表される血管合併症を発症するため、その管理・治療が重要視されている

る。内臓脂肪蓄積に始まり、インスリン抵抗性の形成から代謝異常発症、最終的に動脈硬化に至るメカニズムに関しては様々な角度から多くの研究が報告されている。

## 2. 研究の目的

小胞体ストレス応答の血管リモデリングと粥状動脈硬化に果たす役割を検討する。WFS1 欠損マウスを中心とした解析から、血管リモデリングや粥状動脈硬化の発症・進展における小胞体ストレスの役割を明らかにし、生体内の小胞体ストレス応答を調節することによる動脈硬化に対する新規予防・治療法の可能性を探ることである。メタボリックシンドロームの病態の解明を目指して研究をおこなってきており、特に動脈硬化の発症・進展における小胞体ストレスの役割について、WFS1 を欠損したマウスを用い小胞体ストレス応答、さらには WFS1 によって調節されるであろうアポトーシスや酸化ストレス応答を *in vivo* で解析すること、および、動脈硬化病変の形成に関わる血管内皮細胞・平滑筋細胞・マクロファージの個々の細胞系を用いて解析し、*in vitro* で小胞体ストレス応答に関する詳細な機序を解明することにより、動脈硬化の発症・進展の新たな機序を解明できるのではないかという研究を着想した。

## 3. 研究の方法

WFS1 欠損マウスにおいてカフ傷害モデル、および、アポ E 欠損粥状動脈硬化モデルを作成し、骨髄移植の手技も組み入れながら WFS1 の動脈硬化発症に果たす役割を検討する。

(1) WFS1 欠損マウスに対して、薬物や食事で酸化ストレスや炎症、高血糖、肥満を誘導し、それぞれの状況下でインスリン抵抗性や反応性内膜肥厚の検討を行い、また肝臓、脂肪組織や大動脈における小胞体ストレス応答に関連する分子の発現を解析する。

(2) 各種培養細胞において、小胞体ストレスや酸化ストレス、炎症を誘導し、生体内ストレス応答に関連する分子の発現を、WFS1 の欠損（あるいは RNA 干渉）と関連づけて検討する。

(3) 血管内皮特異的 WFS1 欠損マウスを作成し、反応性内膜肥厚や粥状動脈硬化に及ぼす血管内皮の小胞体ストレス応答の影響を検討する。

(4) マウスにシャペロンを長期投与することで、各臓器における小胞体ストレス応答をはじめとする種々の応答の変化を検討するとともに、インスリン抵抗性や動脈硬化への治療効果を評価する。

## 4. 研究成果

WFS1 欠損マウスを中心とした解析から、WFS1 KO は野生型と比較して、カフ傷害後の内膜肥厚は2倍程度の増強を認めた。肥厚部位の動脈における遺伝子発現を検討したところ、MCP-1 や I1-6 といった炎症性因子や PDGF  $\beta$  や Egr-1 といった平滑筋増殖因子の発現が WFS1 KO で亢進していた。また apoE KO と交配したモデルにおいては、WFS1 KO における大動脈内腔の脂肪染色陽性面積が約30%増大しており、CHOP や Bip といった小胞体ストレス反応蛋白の発現が増強していた。また骨髄移植を行ったところ、WT ドナーを移植した群では KO ドナーを移植した群に比べ、カフ傷害による内膜肥厚が有意に抑制されていた。apoE 欠損を背景にした高コレステロールモデルでは、骨髄移植の結果、動脈硬化面積は KO→KO で大きく、WT→WT で抑制されていたが、骨髄由来細胞と血管壁構成細胞のいずれの WFS1 が粥状動脈硬化進展に重要な役割を果たしているかはっきりしなかった。このような実験結果から WFS1 は血管における炎症反応や平滑筋増殖因子の発現を抑制することで、炎症による血管リモデリングを

抑制し、また骨髄移植の結果から、炎症による血管リモデリングにおいては血管壁構成細胞よりも骨髄由来細胞の WFS1 が重要な役割を果たしていると考え、血管リモデリングや粥状動脈硬化の発症・進展における小胞体ストレスの役割を明らかにし、WFS1 発現抑制による小胞体ストレス・酸化ストレス応答などへの効果を個別に直接解析した。メタボリックシンドロームの病態の解明を目指して研究をおこなってきており、特に動脈硬化の発症・進展における小胞体ストレスの役割について、WFS1 を欠損したマウスを用い小胞体ストレス応答、さらには WFS1 によって調節されるであろうアポトーシスや酸化ストレス応答を *in vivo* で解析すること、および、動脈硬化病変の形成に関わる血管内皮細胞・平滑筋細胞・マクロファージの個々の細胞系を用いて解析し、*in vitro* で小胞体ストレス応答に関する詳細な機序を解明することにより、動脈硬化の発症・進展の新たな機序を解明することができた。

#### 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 4 件)

1. Saito T, Hasegawa Y, Ishigaki Y, Yamada T, Gao J, Imai J, Uno K, Kaneko K, Ogihara T, Shimosawa T, Asano T, Fujita T, Oka Y, Katagiri H. Importance of endothelial NF- $\kappa$ B signalling in vascular remodelling and aortic aneurysm formation. *Cardiovasc Res* 査読有 97(1): 106-114, 2012 doi: 10.1093/cvr/cvs298
2. Hasegawa Y, Saito T, Ogihara T, Ishigaki Y, Yamada T, Imai J, Uno K, Gao J, Kaneko K, Shimosawa T, Asano T, Fujita T Oka Y, Katagiri H. Blockade of the NF-kappaB pathway in the

endothelium prevents insulin resistance and prolongs lifespans.

*Circulation*. 査読有 125: 1122-1133, 2012 doi:

10.1161/CIRCULATIONAHA.111.054346

3. Uno K, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Hasegawa Y, Gao J, Kaneko K, Matsusue K, Yamazaki T, Oka Y, Katagiri H. Hepatic peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ -fat-specific protein 27 pathway contributes to obesity-related hypertension via afferent vagal signals. *Eur Heart J* 査読有 33: 1279-1289, 2011 doi: 10.1093/eurheartj/ehr265
4. Gao J, Ishigaki Y, Yamada T, Kondo K, Yamaguchi S, Imai J, Uno K, Hasegawa Y, Sawada S, Ishihara H, Oyadomari S, Mori M, Oka Y, Katagiri H. Involvement of Endoplasmic Stress Protein C/EBP Homologous Protein in Arteriosclerosis Acceleration With Augmented Biological Stress Responses. *Circulation*. 査読有 124(7): 830-839, 2011 doi: 10.1161/

[学会発表] (計 3 件)

1. Kondo K, Ishigaki Y, Gao J, Yamada T, Imai J, Sawada S, Muto A, Oka Y, Igarashi K, Katagiri H. Bach 1 deficiency protects pancreatic beta cells from oxidative stress injury. 48th European Association for the Study of Diabetes Annual Meeting, Oct 1-5, 2012 Berlin, Germany
2. 近藤敬一, 石垣泰, 高俊弘, 澤田正二郎, 山田哲也, 今井淳太, 鈴木亨, 本間緑, 武藤哲彦, 五十嵐和彦, 岡芳知,

片桐秀樹 BTB and CNC homology 1  
(Bach1)欠損による膵β細胞保護効果.  
第55回日本糖尿病学会年次学術集会,  
2012年5月17-19日, 横浜

3. 高俊弘, 石垣泰, 澤田正二郎, 近藤敬一, 井泉知仁, 宇野健司, 長谷川豊, 山口賢, 金子慶三, 突田壮平, 高橋圭, 今井淳太, 山田哲也, 石原寿光, 岡芳知, 片桐秀樹 動脈硬化発症・進展におけるWSF1の役割の検討. 第54回日本糖尿病学会年次学術集会, 2011年5月19-21日, 札幌

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

高俊弘 (GAO JUNHONG)  
東北大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号: 70455781

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: