

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791957

研究課題名(和文) 心筋虚血再灌流障害におけるSOCS3欠損によるシグナル活性とその役割及び有効性

研究課題名(英文) efficacy and role of signaling pathway by SOCS3-CKO in myocardial ischemia reperfusion injury

研究代表者

永田 隆信(NAGATA, TAKANOBU)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：50535078

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：我々はJAK-STAT経路が活性化された際にこれを抑制するネガティブフィードバック因子、SOCS3に着目した。マウス心筋虚血再灌流モデルを作成しEvansBlue、TTCの2重染色を行った。野生型マウス、心筋特異的SOCS3欠損マウス(SOCS3-CKO)と比較しSOCS3-CKOで障害の抑制を認めた。TUNEL染色でも陽性細胞が減少しアポトーシスが抑制されていた。細胞内シグナル伝達の評価を行い野生型ではSOCS3の発現が見られ、その結果JAK-STAT経路は抑制、アポトーシスが誘導されていた。SOCS3-CKOではJAK-STAT経路の活性化も持続しアポトーシスが抑制されていた事が解った。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of myocardial suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS3), an intrinsic negative feedback regulator of the JAK-STAT signaling pathway, in the pathophysiology of myocardial ischemia-reperfusion(I/R) injury. Activation of cardioprotective signaling pathways including STAT3, AKT, and ERK1/2 were rapidly peaked and was inactivated after I/R. Although the initial infarct size after coronary occlusion determined by triphenyltetrazolium chloride staining was comparable between control and cardiac-specific SOCS3 knockout mice (SOCS3-CKO), the infarct size 24 h after I/R was reduced by approximately 30% in SOCS3-CKO mice, indicating that progression of myocardial I/R injury was prevented in SOCS3-CKO hearts. Cardiac-specific SOCS3 deletion enhanced multiple cardioprotective signaling pathways including STAT3, AKT and ERK1/2 while inhibiting myocardial apoptosis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 救急医学

キーワード：アポトーシス シグナル

## 1. 研究開始当初の背景

(1)

急性心筋梗塞の急性期死亡率は経皮的冠動脈形成術による再灌流療法をはじめとする初期治療の進歩により著しい改善が得られた。

(2)

しかしその一方で治療後に生じてしまう虚血再灌流障害により長期予後の改善が不良である事が現在の大きな問題となっている。

(Ito A, Internal Med 1992)

(Packer M, Am J Cardiol 1999)

(3)

近年の動物実験にて、Granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF) や erythropoietin(EPO)等のサイトカイン投与によりこの障害が抑制される事が報告されている。

(4)

G-CSF や EPO は JAK-STAT (Janus kinase-signal transducer and activator of transcription) 経路と呼ばれるサイトカインシグナルを活性化し、リン酸化を受けた STAT、ERK、AKT 等の生存シグナルによって細胞死を抑制するためである。

(5)

しかしその臨床研究では明らかな効果が得られなかった。

(Parvaneh Rafiee, Basic Res Cardiol 2005)

(Eduardo M, Circulation 2001)

(Yuichi O, Cardiovas Res 2005)

(Takano H, Pharmacological Sciences 2007)

その理由は不明な点が多いが、これまでの研究では JAK-STAT 経路が活性化された際にこれを抑制するネガティブフィードバック因子、SOCS3 (Suppressor of cytokine signaling-3) については十分な検討がなされていない

(6)

我々は急性心筋梗塞の病態において SOCS3 を欠損させる事で生存シグナル活性化を促進し心筋障害を抑制する事を見いだしている。

(Oba T, JACC2011)

(7)

したがって我々は先に述べた虚血再灌流障害の病態においても SOCS3 によるネガティブフィードバックが大きく関与し生存シグナルが抑制されていると考えた。

本研究では、未だその有効な治療法が確立されていない虚血再灌流障害の治療を見出す事が目標である。

## 2. 研究の目的

本研究は、心筋虚血再灌流障害における SOCS3 の役割を明らかにする事である。また心筋特異的 SOCS3 欠損が心筋障害を抑制した場合、その新たな治療を臨床応用として検討する事が目的である。

## 3. 研究の方法

マウス心筋虚血再灌流モデルを作成し、その障害の評価、メカニズム解析を行う。また心筋特異的 SOCS3 欠損マウスにても同モデルを作成し野生型と比較、検討を行う。

## 4. 研究成果

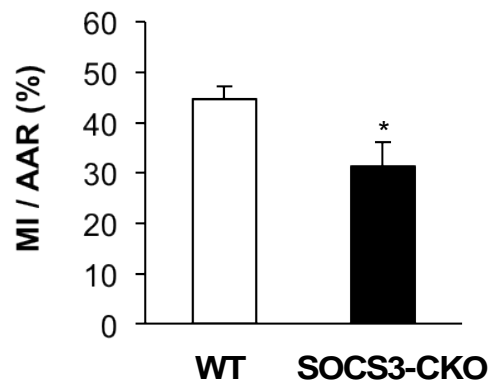
(1)

マウス心筋虚血再灌流後 24 時間にて EvansBlue、TTC の 2 重染色を行った結果、心筋虚血再灌流障害を観察、評価する事ができた。

(2)

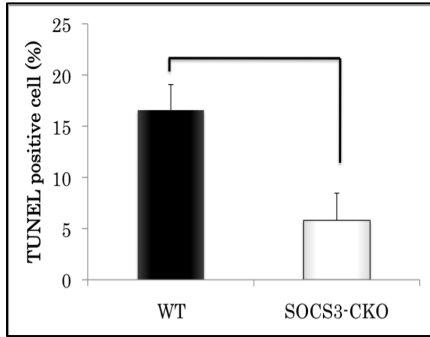
野生型マウス、心筋特異的 SOCS3 欠損マウス(SOCS3-CKO)、両マウスにおいてモデルを作成、評価したところ SOCS3-CKO で心筋虚血再灌流障害の抑制を認めた。

(MI: 梗塞巣、AAR: 虚血領域、WT: 野生型マウス、SOCS3-CKO: 心筋特異的 SOCS3 欠損マウス、\*:  $p < 0.05$ )

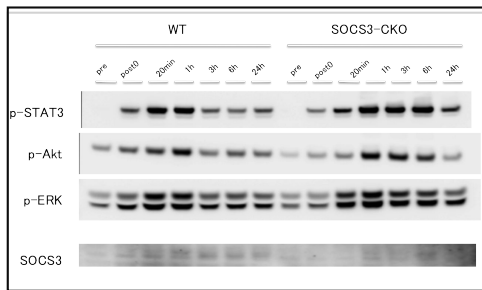


(3)

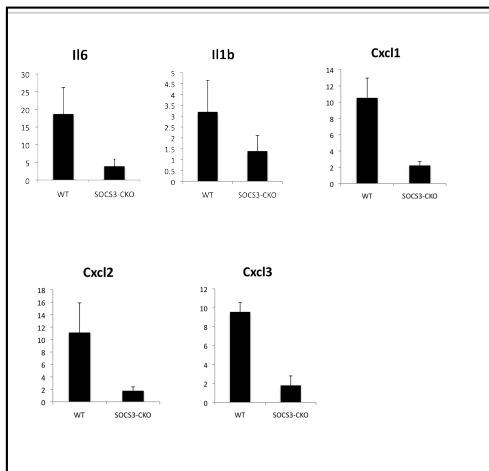
モデル作成後 6 時間で TUNEL 染色を行ったところ野生型マウスと比較し SOCS3-CKO では TUNEL 陽性細胞の割合が少なく、SOCS3-CKO ではアポトーシスが抑制されている事が判明した。



(4) 両モデルにおいて細胞内シグナル伝達の評価を行ったところ野生型では SOCS3 の発現が見られ、以後は JAK-STAT 経路は抑制されており、それによりアポトーシスが誘導されていると考えられた。それに反して SOCS3-CKO では SOCS3 の発現は見られず、JAK-STAT 経路の活性化も持続して認めた。そのためアポトーシスが抑制されている事が解った。



(5) 両モデルにおいて障害 6 時間後の Genechip による遺伝子解析を行ったところ、SOCS3-CKO では野生型マウスと比較して炎症性サイトカインの発現が抑制されていた。よって炎症シグナルを介して障害を抑制している事が解った。



## 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 3 件)

(1) 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 35(11): 1063-1068, 2012.11  
査読有

(2) Fukui D, Yasukawa H, Sugi Y, Oba T, Nagata T, Kyogoku S, Futamata N, Yokoyama T, Yokoyama S, Kai H, Ueno T, Kage M, Imaizumi T: Transient reduction and activation of circulating dendritic cells in patients with acute myocardial infarction.

Int J Cardiol 160(3): 216-219, 2012.10  
査読有

(3) Oba T, Yasukawa H, Hoshijima M, Sasaki K, 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(9): 838-852, 2012.2  
査読有

〔学会発表〕(計 3 件)

(1) 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 doxorubisin-induced cardiomyopathy in mice.

The American Heart Association, The 85th Scientific Sessions.  
Los Angeles, USA, November3-7, 2012.

(2) 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, November3-7, 2012

(3)

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)

〔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

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

永田 隆信 (NAGATA TAKANOBU)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号 : 50535078

### (2)研究分担者

( )

研究者番号 :

### (3)連携研究者

( )

研究者番号 :