

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861537

研究課題名(和文) 心筋虚血再灌流障害のSOCS3欠損によるプレコンディショニングの有効性とその役割

研究課題名(英文) Efficacy and role of myocardial ischemic preconditioning via activate 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) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：心筋虚血プレコンディショニングと心筋虚血再灌流障害におけるJAK-STAT経路の制御因子であるSOCS3の役割について研究を行った。心筋虚血プレコンディショニング後の心臓ではSTAT3の活性化を認め、JAK-STAT経路の活性化を確認する事ができた。また心筋虚血プレコンディショニング後の心筋虚血再灌流障害において心筋特異的SOCS3欠損マウスでは野生型と比較して24時間後の心筋梗塞領域が減少していた。これは心筋特異的SOCS3欠損が心筋虚血プレコンディショニングの効果を増強し心筋虚血再灌流障害を抑制する事を示唆する結果であった。

研究成果の概要(英文)：I 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 ischemic preconditioning (IPC) and myocardial ischemia-reperfusion injury (IRI). Activation of STAT3 was rapidly peaked and was inactivated after IPC. The infarct size 24 hour after IRI was reduced in SOCS3-CKO. These results suggested that progression of myocardial IRI was prevented in SOCS3-CKO hearts. Cardiac-specific SOCS3 deletion enhanced cardioprotective signaling pathway by ischemic preconditioning.

研究分野：循環器内科

キーワード：SOCS3 JAK-STAT signaling ischemia reperfusion ischemic preconditioning

1. 研究開始当初の背景

(1)

AMI に対して急性期に PCI を行い冠動脈血流を再開する事によって急性期の救命率は著しく改善した。しかし PCI 後再灌流された心筋組織で障害が進行し、再灌流されるまでは生存していた心筋も再灌流後に細胞死を起こしてしまう。この現象が心筋虚血再灌流障害として知られ、慢性期に虚血性心不全へ至る原因である。その予後は 5 年生存率 40% 前後と拡張型心筋症と並ぶ程不良である (Internal Med 1992)。そして現在心不全患者の人口は年々増加傾向で、その心不全の原因疾患としてこの虚血性心不全の割合が半数を占めている (Am J Cardiol 1999)。これが問題視され様々な研究が行われているが未だ確立した治療法はない。

(2)

冠動脈硬化は、血管内腔が保たれたプラークであっても脂質プールが大きいと破綻を来し急速に血栓閉塞を起こす。すると短期的、間欠的で不規則な胸痛が出現し、不安定狭心症の病態に至る。その後血栓が増大し血管を完全閉塞する事で長時間虚血による ST 上昇型 AMI となり持続性胸痛へと進展する。この AMI へ至る前段階の予備的な狭心症発作が プレコンディショニング(PC) と呼ばれる作用を起こし心筋保護、予後改善に働き重要である事が明らかとなった (Am J Cardiol 2003)。これは 長時間虚血が起こってしまう前に短時間虚血が予備的にあると心筋保護が得られ障害が縮小するためである。AMI の多くがこの不安定プラークによるという理解が進み、PCI 後の患者の予後改善のため臨床の場でも注目されている。

(3)

一方、近年動物実験で心筋虚血 PC において心筋細胞内シグナル伝達分子 STAT3 が重要である事が示されている (Cardiovasc Res 2004)。一過性虚血にさらされた心筋で STAT3 が活性化し心保護に働くが、逆に STAT3 の活性を抑制すると PC の効果が得られない (J Mol Cell Cardiol 2001)。STAT3 はサイトカイン刺激によって活性化される JAK-STAT 経路 と呼ばれる生存シグナルで活性を受け細胞死を抑制するためである (Circulation 2001)。このシグナルは虚血性心疾患の分野で広く知られ、近年の報告で AMI に対して G-CSF や erythropoietin (EPO) 等の投与で障害が抑制されるという報告も同経路による効果である。しかしこれらの臨床研究では結果的に有効性は得られておらず (Pharmacological Sciences 2007)、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 が関与している可能性が高い。

(4)

SOCS3 は STAT3 により発現が誘導される標的遺伝子のひとつである。STAT3 が活性化を受けると心保護に働くと同時に、SOCS3 の発現が誘導され生存シグナルは強い抑制を受けてしまう。心筋炎等の病態ではこの SOCS3 を欠損させる事で STAT3 活性化が增強され心保護が強くなり心筋障害が抑制される事が知られている (Yasukawa H, J Clin Invest 2001)。

(5)

また近年我が研究で、虚血心筋においても生存シグナルのブレーキとなる SOCS3 を制御する事で生存シグナル活性が增強し心筋障害が抑制する事を見出している (Oba T, JACC2011)。心筋虚血 PC の病態において STAT3 の発現により心保護が働いている一方で、自然経過で得られるその効果は不十分であり良好な予後は得られない。そしてその病態で STAT3 の内因性ネガティブフィードバック因子である SOCS3 がどの様に作用しているかは不明である。

2. 研究の目的

【仮説】 心筋特異的に SOCS3 を欠損する事で PC による JAK-STAT 経路、及びその下流の生存シグナルの活性がより增強され効果的に作用し、心筋虚血再灌流障害が抑制されると仮説を立てた。

【研究目的】 心筋再灌流障害における PC の効果とメカニズムを明らかにし、それにおける 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

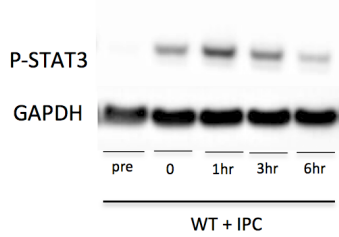
マウス心筋虚血プレコンディショニング再灌流モデル (I/R + PC: Ischemia-Reperfusion + Preconditioning) を作成し、その障害の評価、メカニズム解析を行う。また SOCS3-CKO にても同モデルを作成し野生型 (Wild) と比較、検討を行う。結果、仮説が証明されれば治療的応用的な検討を行う。

4. 研究成果

(1)

野生型マウス (WT) で心筋虚血プレコンディショニング (IPC) によって STAT3 の活性化 (P-STAT3) を確認する事ができた。しかしその活性化は一過性であった (図 1)。

(図 1)

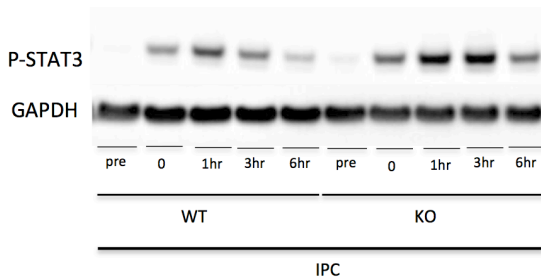


P-STAT3 をウエスタンブロットで評価した。WT に IPC を行った直後(0)、1 時間後(1hr)で活性化を認めるが 3 時間後(3hr)、6 時間後(6hr)では活性が抑制されている。

(2)

心筋特異的 SOCS3 欠損マウス(KO)において、同様に IPC 後の心臓で P-STAT3 を確認したところ、WT と比較して STAT3 の活性は遷延、持続している事が確認できた (図 2)。

(図 2)

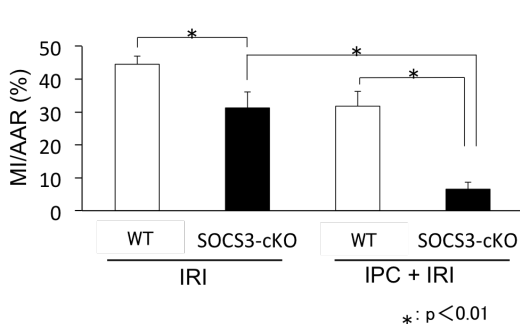


心筋特異的 SOCS3 欠損マウス(KO)では IPC 後 3 時間(3hr)、6 時間(6hr)でも STAT3 の活性化(P-STAT3)が増強、遷延している。

(3)

野生型マウスと心筋特異的 SOCS3 欠損マウス、それぞれにおいて心筋虚血プレコンディショニングを行った後、心筋虚血再灌流障害を作成したところ、明らかに心筋特異的 SOCS3 欠損マウスで梗塞領域の抑制が見られた (図 3)。

(図 3)



WT で IRI を行うと虚血領域に占める梗塞領域 (MI/AAR) は 40%以上となるが IPC により障害は 30%程度に抑制される。この IPC の効果が SOCS3-cKO によってさらに抑制されている。

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 2 件)

(1)

Nagata T, Yasukawa H, Kyogoku S, Oba T, Takahashi J, Nohara S, Minami T, Mawatari K, Sugi Y, Shimozono K, Pradervand S, Hoshijima M, Aoki H, Fukumoto Y, Imaizumi T.

Cardiac-Specific SOCS3 Deletion Prevents In Vivo Myocardial Ischemia Reperfusion Injury through Sustained Activation of Cardioprotective Signaling Molecules. *PLoS One* 2015;10(5):e0127942, 2015.

査読有り

(2)

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* 63: 2722-2733, 2014

査読有り

[学会発表] (計 3 件)

(1)

第 19 回 日本心不全学会学術集会 (2015 年 10 月 22 日~24 日: グランフロント大阪)

1. 一般口演” Change of transcriptional profile in response to cardiac-specific deletion of SOCS3 after myocardial ischemia reperfusion injury.”

Takanobu Nagata, Hideo Yasukawa, Jinya Takahashi, Koutatsu Shimozono, Shoichiro Nohara, Tomoko Minami, Sachiko Kyougoku, Toyoharu Oba, Kazutoshi Mawatari, Yusuke Sugi, Yoshihiro Fukumoto

(2)

第 63 回 日本心臓病学会 (2015 年 9 月 18 日)

～9月20日：パシフィコ横浜)
一般ポスター演題” Cardiac-Specific
SOCS3 Deletion Prevents *In Vivo* Myocardial
Ischemia Reperfusion Injury through
Sustained Activation of Cardioprotective
Signaling Molecules”

Takanobu Nagata, Hideo Yasukawa, Jinya
Takahashi, Koutatsu Shimozono, Shoichiro
Nohara, Tomoko Minami, Sachiko Kyougoku,
Toyoharu Oba, Kazutoshi Mawatari, Yusuke
Sugi, Yoshihiro Fukumoto

(3)

第18回 日本心不全学会学術集会 (2014年
10月10日～12日：大阪国際会議場)

1. 一般ポスター演題” Prevention of
Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in
Cardiac-Specific SOCS3 Knockout Mice by
enhanced activation of cardioprotective
signaling pathways.”

T Nagata, H Yasukawa, T Oba, S Pradervand,
K Mawatari, S Kyogoku, H Ohshima, T Minami,
K Sasaki, T Yajima, M Hoshijima, Kirk U
Knowlton, T Imaizumi, Y Fukumoto

〔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：