

HA-ECM クロスリンク破綻を介した急性大動脈解離発症機序の解明

下田将之

東京慈恵会医科大学 病理学講座

【研究の背景】

急性大動脈解離(acute aortic dissection=AAD)は血管壁の恒常性破綻と血圧上昇により発症しうる致死率の高い循環器救急疾患であり、生活習慣病や加齢などがその危険因子として知られている。申請者らは、これまでに、細胞外マトリックス(extracellular matrix=ECM)クロスリンクを阻害する β -aminopropionitrile monofumarate (BAPN)投与後にアンギオテンシンII (AngII)を持続投与することにより、24 時間以内に全例で劇的に AAD を発症する新たなマウスモデルを開発してきた。本 AAD マウスモデルやヒト組織を用いて、好中球由来プロテアーゼである MMP-9 が解離大動脈破裂誘導に関わることや大動脈外膜に集簇する炎症細胞が AAD 発症・進展に寄与することを明らかにし、AAD 発症のトリガーとしてのプロテアーゼ-ECM 代謝系の重要性を報告してきたが^{1,2)}、AAD 発生機序については未だ不明な点が多いのが現状である。

【目 的】

本研究では、我々独自に開発した AAD マウスモデルと空間的遺伝子発現解析を融合することにより、AAD 大動脈壁の時空間的リアルワールドにおける遺伝子発現解析を行い、AAD のトリガーを同定する。さらに、ヒアルロン酸(hyaluronic acid=HA)代謝と ECM との相互作用に着目し、HA-ECM クロスリンク破綻を介した AAD 発症機序の解明を行うことを目的とする。

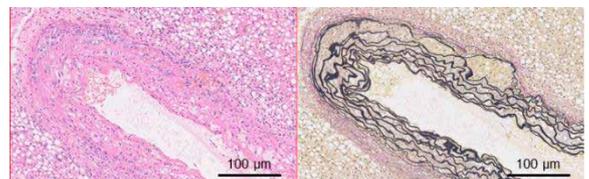
【方 法】

本研究では、以下の 2 主要研究項目を立てて研究を遂行した。

- (1) AAD マウスモデル作製と AAD 組織を用いた時空間的単一細胞解析:本項目では、マウス正常および AAD 大動脈組織を用いて、空間的遺伝子発現解析を遂行することにより、AAD 大動脈壁で高発現する分子の同定や相互作用、さらには AAD トリガーとなりうる因子(細胞集団や分子)の同定を行った。
- (2) *Hybid* KO マウスを用いた HYBID-HA 分解系による AAD 発症機序の解明:HA の新規分解酵素である HYBID(hyalurannan binding protein involved in hyaluronan depolymerization)に着目し、*Hybid* KO および野生型マウスを用いて、AAD マウスモデルを作製し、両マウス群での死亡率について比較を行うとともに、早期での大動脈壁脆弱性の程度、解離の程度や HA 沈着の程度を組織学的に検討した。

【結 果】

- (1) AAD マウスモデル作製と AAD 組織を用いた時空間的単一細胞解析:野生型の幼若マウスに BAPN を 1 ヶ月間投与し AAD マウスモデルを作製し(右図)、マウス正常および AAD 大動脈組織を用いて、空間的遺伝子発現解析(Visium、10xGenomics)を行った。AAD 発症過程における大動脈壁の遺伝子発現パターンを解析す



ることにより、AAD 動脈壁で高発現する分子群を同定した。また、metascape 解析などを用いて、AAD 大動脈壁には ECM リモデリングに関わる分子が多く含まれていることが明らかとなった。

- (2) *Hybrid* KO マウスを用いた HYBID-HA 分解系による AAD 発症機序の解明:*Hybrid* KO マウスを用いて、AAD マウスモデルを作製した。*Hybrid* KO マウスでは野生型マウスと比較し、BAPN 投与による死亡に抵抗性を示すとともに、*Hybrid* KO マウスでは、解離を来した大動脈壁に HA 沈着の増加が認められ、HYBID-HA 分解系抑制に伴う HA 代謝異常が HA-ECM クロスリンク破綻、さらには大動脈壁破綻に寄与している可能性が考えられた。

【考 察】

AAD は中膜嚢胞性壊死や動脈硬化性病変の中膜への波及など、その発症に大動脈中膜の組織リモデリングが基礎にあることは明らかであるが、これまで AAD の適切な実験動物モデルがなかったことから、その発症機序に関わる研究は十分に進んでいなかった。本研究では、我々独自に開発した AAD マウスモデルと空間的遺伝子発現解析を融合することにより、AAD 大動脈壁で高発現する新たな分子を同定し、AAD 発症における HYBID-HA 分解系の重要性を見出した。本研究成果は、AAD の発症機序解明および大動脈壁の ECM 代謝の観点から潜在的な新規予防医薬を探索する点においても意義があるものと考えている。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

我々独自に開発した AAD マウスモデルと空間的遺伝子発現解析を融合した本研究成果は AAD に対する新規予防医薬を開発する上でも大きな礎となりうる可能性があると考えている。また、本研究で見出した AAD 発症に寄与する HYBID-HA 分解系は HA 研究分野で近年注目されている新規生体内 HA 分解機構である。これまでの研究から HYBID-HA 分解系は生理的・病的状態において多岐にわたる作用を発揮することが示唆されており³⁻⁵⁾、今後予防的薬物療法のない AAD に対しても HYBID 阻害剤の予防的効果を検討することは臨床的に意義が大きいと考えている。

【参考・引用文献】

1. Kurihara T, Shimizu-Hirota R, Shimoda M, Adachi T, Shimizu H, Itoh H, Hori S, Aikawa N and Okada Y: Neutrophil-derived matrix metalloproteinase 9 triggers acute aortic dissection. *Circulation* 2012; 126:3070-3080.
2. Anzai A, Shimoda M, Endo J, Kohno T, Katsumata Y, Matsuhashi T, Yamamoto T, Ito K, Yan X, Shirakawa K, Shimizu-Hirota R, Yamada Y, Ueha S, Shinmura K, Okada Y, Fukuda K, Sano M. Adventitial CXCL1/G-CSF expression in response to acute aortic dissection triggers local neutrophil recruitment and activation leading to aortic rupture. *Circ Res* 2015; 116:612-623.
3. Shimoda M, Yoshida H, Mizuno S, Hirozane T, Horiuchi K, Yoshino Y, Hara H, Kanai Y, Inoue S, Ishijima M, Okada Y. Hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization controls endochondral ossification through hyaluronan metabolism. *Am J Pathol* 2017; 187:1162-1176.
4. Shimizu H, Shimoda M, Mochizuki S, Miyamae Y, Abe H, Chijiwa M, Yoshida H, Shiozawa J, Ishijima M, Kaneko K, Kanaji A, Nakamura M, Toyama Y, Okada Y. Hyaluronan-binding protein involved in hyaluronan depolymerization is up-regulated and involved in hyaluronan degradation in human osteoarthritic cartilage. *Am J Pathol*. 2018; 188:2109-2119.
5. Dokoshi T, Zhang LJ, Li F, Nakatsuji T, Butcher A, Yoshida H, Shimoda M, Okada Y, Gallo RL. Hyaluronan degradation by cemip regulates host defense against staphylococcus aureus skin infection. *Cell Rep*. 2020; 30:61-68.e4.