

研究助成 2018 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	筑波大学 生存ダイナミクス研究センター
氏 名	山城義人
研究テーマ	大動脈瘤の新規治療法開発のための基盤解析

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。（図表、写真などの添付を含む）

申請した研究計画の80%に該当する、研究計画1.細胞外マトリクスのメカノセンサーとしての役割の解析と、研究計画2.血管壁におけるTSP1の役割と関与するシグナル伝達経路の特定に従事し、成果をPNAS誌に公表したので、以下その概要をまとめる。残りの20%である、研究計画2の医療応用については、今現在も進行中である。

【研究目的】 血管壁は絶えずメカニカルストレス（血圧や血流による血行力学的応力）にさらされており、その制御機構の破綻が血管疾患の根本原因ではないかと注目されています。申請者はこれまでに、大動脈瘤において、メカニカルストレス応答異常と細胞骨格のリモデリングが瘤の形成に重要な役割を担っていること、大動脈瘤病変でThbs1が過剰に発現していること、またThbs1の抑制が大動脈瘤発症の抑止に効果的であることを示してきましたが、血管のメカノトランスダクション機構における細胞外マトリクスの役割と、血管疾患発症の分子メカニズムの詳細は明らかにされていませんでした。

【研究手法】 本研究ではまず、ラット血管平滑筋細胞を用いて周期的伸展刺激において分泌されるタンパク質を網羅的に解析し、Thrombospondin-1 (Thbs1)を含む、85つのタンパク質を同定しました。Thbs1が大動脈瘤病変で過剰に発現している先行研究の結果から、Thbs1の役割に注目し、Thbs1が伸展刺激後に細胞辺縁部の細胞接着斑に局在し、細胞基質接着を制御するintegrin $\alpha\text{v}\beta\text{1}$ に結合することを明らかにしました。次に、Thbs1欠損細胞では、伸展刺激応答における接着斑の活性化が誘導されず、アクチンフィラメントの配向が崩れ、細胞張力が減少していることを明らかにしました。遺伝子発現解析 (RNA-seq) の結果、転写調節因子YAPの標的遺伝子の発現が、Thbs1欠損細胞では伸展刺激後も抑制されること、伸展刺激によるYAPの核内移行（活性化）にはThbs1が必要であることを見出しました。また、YAPの核内移行は、Thbs1のintegrin $\alpha\text{v}\beta\text{1}$ への結合と、低分子量Gタンパク質Rap2の不活性化を伴って、Hippo経路依存的に制御されていることがわかりました。さらに、Thbs1欠損マウスは、横行大動脈縮窄術 (TAC) による圧負荷により、血管の破裂・解離を引き起こす一方、頸動脈狭窄術による新生内膜の形成時に、新生内膜細胞の増殖を抑制することを明らかにしました。

【研究成果】 これらの結果から、細胞のメカニカルストレス応答の中心を担う、転写調節因子YAPの活性化を、細胞外マトリクスThbs1が制御することがわかりました。さらに、Thbs1が制御するYAP活性化のシグナル伝達経路は、血管壁の圧負荷応答や、狭窄に伴う新生内膜形成時の血管リモデリングに重要な働きを示すことを明らかにしました。

研究助成 2018 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <発表実績/予定一覧>

所	属	筑波大学 生存ダイナミクス研究センター
氏	名	山城義人

1. 論文発表実績	
<ul style="list-style-type: none"> ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 ・ 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引く。 ・ 国内外雑誌を問わない。 ・ 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 	
1	<p><u>Yamashiro Y</u>, Yanagisawa H. The Molecular Mechanism of Mechanotransduction in Vascular Homeostasis and Disease. <i>Clin. Sci.</i> 134(17):2399-2418, 2020. IF:5.223 査読有</p>
2	<p>Shin SJ, Hang HT, Thang BQ, Shimoda T, Sakamoto H, Osaka M, Hiramatsu Y, <u>Yamashiro Y*</u> and Yanagisawa H*. Role of PAR1-Egr1 in the initiation of Thoracic Aortic Aneurysm in Fibulin-4 deficient mice. <i>Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.</i> 40(8):1905-1917, 2020. IF:6.604 *corresponding author 査読有</p>
3	<p><u>Yamashiro Y*</u>, Thang BQ, Ramirez K, Shin SJ, Kohata T, Ohata S, Nguyen TAV, Ohtsuki S, Nagayama K and Yanagisawa H*. Matrix mechanotransduction mediated by thrombospondin-1/integrin/YAP in the vascular remodeling. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA.</i> 117(18):9896-9905, 2020. IF:9.412 *corresponding author 査読有</p>
4	<p>Sugiyama K, Horigome H, Lin L, Murakami T, Shiono J, <u>Yamashiro Y</u>, Matsuura H, Yoda H, Yanagisawa H. Novel <i>ELN</i> mutation in a Japanese family with a severe form of supraaortic stenosis. <i>Mol. Genet. Genom. Med.</i> 7(11):e986, 2019. IF:1.995 査読有</p>
5	<p><u>Yamashiro Y</u>, Thang BQ, Shin SJ, Lino CA, Nakamura T, Kim J, Sugiyama K, Tokunaga C, Sakamoto H, Osaka M, Davis EC, Wagenseil JE, Hiramatsu Y and Yanagisawa H. Role of thrombospondin-1 in mechanotransduction and development of thoracic aortic aneurysm in mouse and humans. <i>Circ. Res.</i> 123(6):660-672, 2018. IF:14.467 査読有</p>

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2020年9月	第52回 日本結合組織学会（オンライン開催） 大高賞講演 山城義人 Thrombospondin-1 を介した大動脈瘤血管壁の機械刺激応答と大動脈瘤形成における役割
2	2020年9月	第93回 日本生化学学会（オンライン開催） シンポジウム：多彩な生命現象を制御する血流メカノバイオロジ－（分子から個体まで） 山城義人 血管リモデリングを制御する細胞外マトリクスを介したメカノトランスダクション
3	2020年8月	The 84 th Annual Scientific Meeting of Japanese Circulation Society, YIA Basic Research, July 28th, 2020 (held online) Yoshito Yamashiro Matrix mechanotransduction mediated by thrombospondin-1/integrin/YAP signaling pathway in the remodeling of blood vessel
4	2020年6月	第72回 日本細胞生物学会（オンライン開催） 山城義人 「細胞外マトリクス Thrombospondin-1 を介した YAP の核内移行制御と血管リモデリングにおける役割の解析」
5	2019年12月	CVMW2019 心血管代謝週間（神戸） JVBMO 一般演題 2 O2-JV-6 山城義人 マトリクスメカノトランスダクション と血管リモデリング

6	2019年12月	第42回日本分子生物学会 (福岡) ワークショップ 3AW-16 「生物情報はいかにして細胞の未来を紡ぐのか？」 3AW-16-6 山城義人 メカノジャックで紐解く、血管のリモデリング
7	2019年11月	NAVBO Vascular Biology 2019 (Monterey, USA) Nano-talk and Poster Yoshito Yamashiro et al. Matrix mechanotransduction mediated by thrombospondin-1/integrin/YAP signaling pathway in the remodeling of vessel wall
8	2019年9月	The 3 rd JCS Council Forum on BCVR (Tokyo) Symposium S5-3 Yoshito Yamashiro Matrix mechanotransduction mediated by thrombospondin-1/integrin/YAP signaling pathway in the remodeling of vessel wall
9	2019年5月	Gordon Research Conference Fibronectin, Integrins and Related Molecules (Barga, Italy) Poster Yoshito Yamashiro Matrix mechanotransduction underlie vessel wall remodeling via thrombospondin-1/integrin β 1/YAP signaling pathway
10	2018年12月	CVMW2018 心血管代謝週間 (東京) JVBMO 一般演題「がん・疾患」O1-JV-1 山城義人 マウスとヒトのトロンボスポンジン 1 のメカニカルストレス応答と上行大動脈瘤発症における役割
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2020年4月 (投稿中)	Sugiyama K, Marzi J, Brauchle EM, Ando M, Yamashiro Y , Ramkhelawon B, Schenke-Layland K, Yanagisawa H. Raman microscopy and imaging reveal novel biomolecular fingerprints specific for thoracic aortic aneurysms. <i>Cell Reports Medicine (Under revision)</i> . 2020.