

研究助成 2022 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

| | |
|--|--|
| 現 所 属 | 九州大学病院循環器内科 |
| 氏 名 | 香月 俊輔 |
| 研 究 テーマ | マクロファージ由来エクソソーム中マイクロ RNA による糖尿病血管石灰化制御 |
| <ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果等 1 ページにまとめること。 (図表、写真等の貼付を含む) | |

【序論】

血管石灰化は心血管病の重要なリスクファクターであり、特に糖尿病患者において血管石灰化の重症度は耐糖能異常の程度に依存している。冠動脈石灰化を合併した糖尿病患者では、石灰化を合併していない糖尿病患者と比較して心血管病の発症率が高く、予後不良である。

血管石灰化の機序の一つとして血管平滑筋細胞の骨芽細胞への分化が重要とされており、特に糖尿病患者において TGF-β1 は石灰化を誘導する主要なサイトカインの一つである。これまでマクロファージは TGF-β1 などのサイトカイン分泌を通じてその過程に関与しているとされてきた。しかしながら、最近の研究ではマクロファージ由来のエクソソームと血管石灰化との関連が指摘されており、特にエクソソーム中の miRNA の血管石灰化への役割が注目され始めている。

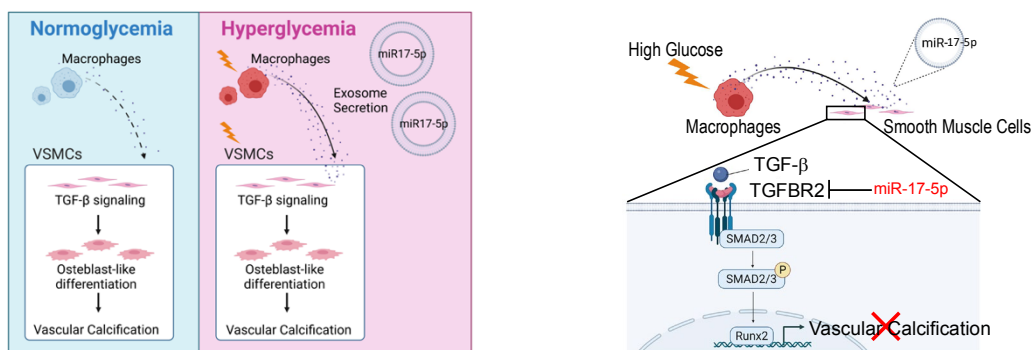
本研究は、高血糖環境下でマクロファージから分泌されたエクソソーム中の miRNA が血管平滑筋細胞の骨形成分化を制御するかを TGF-β シグナル経路に着目して検討した。

【方法と結果】

野生型マウスより腹腔内マクロファージを分離し、正常血糖および高血糖条件下で細胞培養上清から PS アフィニティー法を用いてエクソソームを単離した(正常血糖エクソソーム: EVs-NG、高血糖エクソソーム: EVs-HG)。まずはエクソソームの特性をナノトラック、透過型電子顕微鏡、およびウェスタンブロットにて解析したところ、CD63 を発現した直径 100-120 nm のエクソソーム粒子が観察された。次に、エクソソーム中の miRNA 発現をオリゴチップで網羅的に解析したところ、miR-17-5p の発現が、EVs-NG と比較して EVs-HG において有意に増加していることが示唆された。miRbase を用いた予測解析では II 型 TGF-β 受容体(TGF-β RII)が miR-17-5p の潜在的な標的であることが示唆され、脂質ナノ粒子を用いてマウス血管平滑筋細胞内で miR-17-5p を過剰発現したところ、TGF-β RII の発現が抑制された。EVs-NG を対象群とした EVs-HG を用いた実験でも、TGF-β RII の発現抑制が示され、EVs-HG は内包する miR-17-5p を介してマウス血管平滑筋細胞の TGF-β シグナル活性を抑制、ひいては血管石灰化を抑制することが示唆された。最後に miR-17-5p を過剰発現させて、Alizarin red 染色を用いてマウス血管平滑筋細胞における石灰化を評価したところ、コントロール群と比較して miR-17-5p は石灰化を抑制することが確認された。

【結論】

高血糖環境下においてマクロファージ由来のエクソソームは TGF-β シグナル経路の阻害を介して血管平滑筋細胞の骨形成分化を抑制する可能性が示唆された。



研究助成 2022 – 生活習慣病領域 –

研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

| | |
|--|---|
| 現 所 属 | 九州大学病院循環器内科 |
| 氏 名 | 香月 俊輔 |
| <ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 欄が足りない場合は増やして記入すること。 | |
| 1. 論文発表実績 | |
| <ul style="list-style-type: none"> ● 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こと。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>を引くこと。 ● 国内外雑誌を問わない。 ● 印刷中は in press と記入し、投稿中の論文および学会のアブストラクトは含めない。 | |
| 1 | <u>Katsuki S</u> , Jha PK, Aikawa E, Aikawa M. The role of proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) in macrophage activation: a focus on its LDL receptor-independent mechanisms. Front Cardiovasc Med. 2024; 11:1431398. |
| 2 | Baba I, Matoba T, <u>Katsuki S</u> , Koga JI, Kawahara T, Kimura M, Akita H, Tsutsui H. EVs-miR-17-5p attenuates the osteogenic differentiation of vascular smooth muscle cells potentially via inhibition of TGF-β signaling under high glucose conditions. Sci Rep. 2024; 14:16323. |
| 3 | Koga JI, Umezu R, Kondo Y, Shirouzu T, Orkhonselenge N, Ueno H, <u>Katsuki S</u> , Matoba T, Nishimura Y, Kataoka M. Cyclophilin D induces necrotic core formation by mediating mitochondria-associated macrophage death in advanced atherosclerotic lesions. Atherosclerosis. 2024; 396:118524. |
| 4 | Akiyama Y, <u>Katsuki S</u> , Matoba T, Nakano Y, Takase S, Nakashiro S, Yamamoto M, Mukai Y, Inoue S, Oi K, Higo T, Takemoto M, Suematsu N, Eshima K, Miyata K, Usui M, Sadamatsu K, Kadokami T, Hironaga K, Ichi I, Todaka K, Kishimoto J, Tsutsui H. Association of Serum Oxysterols with Cholesterol Metabolism Markers and Clinical Factors in Patients with Coronary Artery Disease: A Covariance Structure Analysis. Nutrients. 2023; 15:2997. |
| 5 | <u>Katsuki S</u> , Matoba T, Akiyama Y, Yoshida H, Kotani K, Fujii H, Harada-Shiba M, Ishibashi Y, Ishida T, Ishigaki Y, Kabata D, Kihara Y, Kurisu S, Masuda D, Matsuki K, Matsumura T, Mori K, Nakagami T, Nakazato M, Taniuchi S, Ueno H, Yamashita S, Yoshida H, Tsutsui H, Shoji T. Association of Serum Levels of Cholesterol Absorption and Synthesis Markers with the Presence of Cardiovascular Disease: The CACHE Study CVD Analysis. J Atheroscler Thromb. 2023; 30:1766-1777. |
| 6 | <u>Katsuki S</u> #, Jha PK#, Lupieri A, Nakano T, Passos LSA, Rogers MA, Becker-Greene D, Le TD, Decano JL, Lee LH, Guimaraes GC, Abdelhamid I, Halu A, Muscoloni A, Cannistraci CV, Higashi H, Zhang H, Vromman A, Libby P, Ozaki CK, Sharma A, Singh SA, Aikawa E, Aikawa M. PCSK9 promotes macrophage activation via LDL receptor-independent mechanisms. Circ Res 2022; 131:873-889, #equal contribution |
| 7 | Uchikawa T, Matoba T, Kawahara T, Baba I, <u>Katsuki S</u> , Koga JI, Hashimoto Y, Yamasaki R, Ichi I, Akita H, Tsutsui H. Dietary 7-ketocholesterol exacerbates myocardial ischemia-reperfusion injury in mice through monocyte/macrophage-mediated inflammation. Sci Rep. 2022; 12:14902. |
| 8 | |
| 9 | |

| 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、演題を記入すること。 ● 国内外を問わない。 | | |
| | 発表時期 | 発表学会名、発表者名、演題 |
| 1 | 2023年3月 | The 87th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society Isashi Baba, Tetsuya Matoba, Shunsuke Katsuki , Jun-ichiro Koga, Takuro Kawahara, Mitsukuni Kimura, Hiroyuki Tsutsui Macrophage-derived exosomes attenuate osteogenic differentiation of VSMCs via the delivery of miR-X in hyperglycemic condition. |
| 2 | 2022年12月 | 第30回日本血管生物医学会学術集会 YIA session Isashi Baba, Tetsuya Matoba, Shunsuke Katsuki , Jun-ichiro Koga, Hiroyuki Tsutsui Macrophage-derived exosomes attenuate osteogenic differentiation of VSMCs via delivery of miR-X in hyperglycemic condition. |
| 3 | | |
| 4 | | |
| 5 | | |
| 6 | | |
| 3. 投稿、発表予定 | | |
| | 投稿/発表時期 | 雑誌名、学会名等 |
| 1 | | |
| 2 | | |
| 3 | | |
| 4 | | |
| 5 | | |
| 6 | | |