

A, Yamashita O, Ikeda Y, Tsuchida M and Hamano K. *Important role of the angiotensin II pathway in producing matrix metalloproteinase-9 in human thoracic aortic aneurysms*. **J Surg Res**. 183: 472-7, 2013

2) Yamashita O, Yoshimura K, Nagasawa A, Ueda K, Morikage N, Ikeda Y and Hamano K.

Periostin links mechanical strain to inflammation in abdominal aortic aneurysm.

PLoS One. 8: e79753, 2013

3) Kimura T, Shiraishi K, Furusho A, Ito S, Hirakata S, Nishida N, Yoshimura K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Ikeda Y, Miyamoto T, Ueno T, Hamano K, Hiroe M, Aonuma K, Matsuzaki M, Imaizumi T and Aoki H. *Tenascin C protects aorta from acute dissection in mice*. **Sci Rep**. 4: 4051, 2014

2. 学会発表

- 1) 吉兼由佳子、吉村耕一、今中恭子、長環、古賀允久、山本由美子、青木浩樹、橋本淳一、上田誠、広瀬伸一 JNK 阻害薬による動脈瘤形成の抑制—川崎病類似汎血管炎モデルマウスを用いた検討。第 49 回小児循環器学会総会・学術集会、東京、2013 年 7 月 11 日
- 2) 吉兼由佳子、古賀允久、長環、吉村耕一、今中恭子、橋本淳一、上田誠、山本由美子、青木浩樹、広瀬伸一。JNK 抑制による川崎病冠動脈瘤予防薬の開発—汎血管炎モデルマウスを用いた検討。第 33 回日本川崎病学会・学術集会、富山、2013 年 9 月 27 日
- 3) Yoshikane Y, Hashimoto J, Imanaka-Yoshida K, Koga M, Cho T, Yoshimura K, Yamamoto Y, Aoki H, Hirose S. Would Tenascin-C be a biomarker of Kawasaki disease-related arteritis? *The 7th Takao International Symposium on Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease, Tokyo, 2013. July 14.15*
- 4) Yoshikane Y, Hashimoto J, Imanaka-Yoshida, K, Koga M, Cho T, Yoshimura K, Yamamoto Y,

Aoki H, Hirose S. A novel therapeutic target to control the development coronary artery aneurism due to Kawasaki disease in animal model – c-Jun N-Terminal Kinase inhibitor—*American Heart Association Scientific Session 2013, Dallas, U.S.A. Nov 16-20, 2013*

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

炎症性動脈瘤形成症候群の新規診断法の確立に関する研究

-動脈瘤形成におけるテネイシン C の分子機能の解析-

研究分担者：青木浩樹（久留米大学循環器病研究所分子生物学 教授）

研究要旨

炎症性動脈瘤形成症候群は全身性急性汎血管炎に続発し、大動脈や、冠動脈など血管壁の破壊、不可逆的な著しい拡張をおこす。ほとんどが小児期に発症し、川崎病に合併することが多い。特に冠動脈に瘤を形成すると生命予後に直結する重篤な疾患であるが、動脈瘤の形成を防止する根本的な治療法はもとより、形成を予知する指標すら確立していない。画期的な診断・治療法の開発には、動物実験モデルを用いた病態の正確な把握と分子機序の解明が必須である。本研究では、動脈の炎症・瘤形成の病態制御の鍵分子であり、診断マーカー候補分子の一つ、細胞外マトリックス、テネイシン C の血管壁における分子機能の解析を行った。

A. 研究目的

炎症性動脈瘤形成症候群は多くは小児に発症し、全身性急性汎血管炎に続発し、大動脈や、冠動脈など血管壁の不可逆的な著しい拡張をおこし、本態は、血管壁の組織破壊であると考えられる。最近、高齢者の大動脈拡張性病変、すなわち、大動脈瘤／大動脈解離の分子病態メカニズムの解析が精力的にすすめられている。急性炎症に続発する本症候群の病態とは一見異なるが、血管壁の不適切なストレス応答、組織破壊から血管の不可逆的拡張にいたる分子機構は共通すると思われる。我々は、最近、慢性炎症に起因し、より緩徐に破壊が進行する大動脈疾患である大動脈瘤のヒト組織を解析し、組織破壊活性が高い部位でテネイシン C (TN-C) の発現が高いこと、マウス腹部大動脈モデルでも炎症に伴って TN-C が発現が誘導することを見いだした。TN-C は細胞外マトリックスのうち、多彩な分子機能を持つ matricellular タンパクの一つに分類され、組織リモデリングを制御する鍵分子の一つと考えられている。本研究では、TN-C ノックアウトマウスを用いて大動脈瘤・大動脈解離モデルを作成し血管壁における TN-C の炎症制御および組織保護作用に

ついて検討した。

B. 研究方法

本研究は、吉村耕一（山口大学）、今中恭子（三重大学）と共同で行った。

① 動物

C57BL6 をバックグラウンドとする TN-C レポーターマウス、および TNC 遺伝子欠損マウスを用いた。

② 大動脈瘤・解離モデル

腹部大動脈周囲に塩化カルシウム塗布すると、大動脈周囲に炎症が惹起され、血管壁組織が破壊されて血管が拡張、すなわち腹部大動脈瘤が形成される。また、AngiotensinII を負荷すると血圧が上昇する。この二つを組み合わせると、腹部大動脈瘤形成部の上流、胸部大動脈に非常に強い血行動態負荷をかけることができる。本研究ではこのモデルを使用した。

③ 細胞培養および精製 TN-C

大動脈平滑筋細胞は、内因性 TN-C の影響を除外するため、TN-C ノックアウトマウスの胸部大動脈から elastase/collagenase を用いて分離した。培養系に添加する TNC はヒトグリオーマ U251 cell line の培養上清から精製した。

(倫理面への配慮)

遺伝子改変マウス実験を用いた実験は山口大学、三重大学の指定された管理区域内で行い、生命倫理・安全対策に対する取り組みが確保された。本実験計画は、指針に基づき各大学の動物実験委員会および組換え DNA 実験安全委員会で承認され、遺伝子改変実験動物についても指定された管理区域内で行なった。

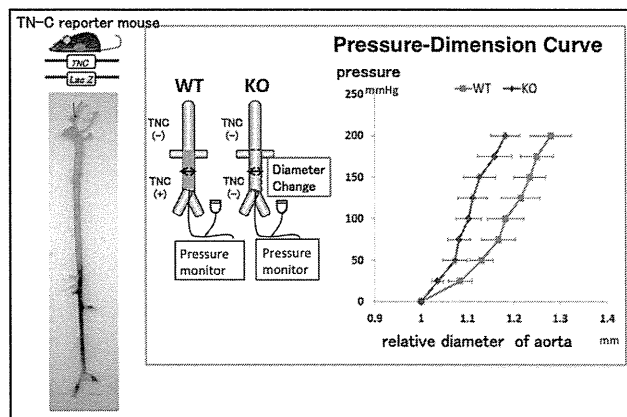
C. 結果

①血管壁における TN-C の発現

マウス胎児の大動脈で、胎児循環がほぼ確立する胎生 14.5 日以降、大動脈全長の中膜平滑筋層で強い TN-C の発現がみられ、出生後、発現はさらに増強したが、成体マウスでは、腹部大動脈中膜にのみ弱い発現がみられた。

②TN-C ノックアウトマウスの血管壁の物理特性

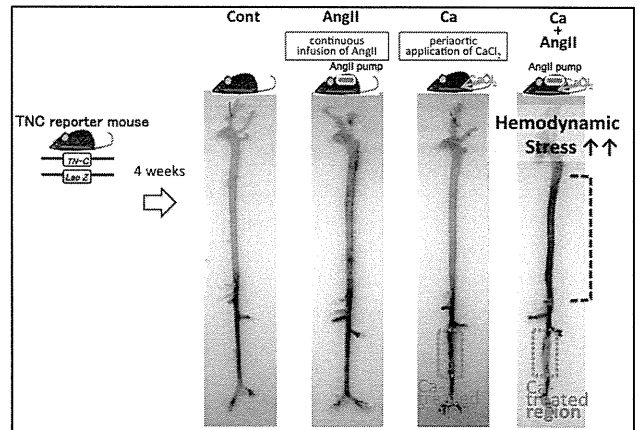
TN-C ノックアウトマウスには目立った表現型がみられないが、本来なら TN-C 発現のみられる腹部大動脈の受動的拡張能を野生型と対比すると、ノックアウトマウスでは血管壁の柔軟性が低下していた。



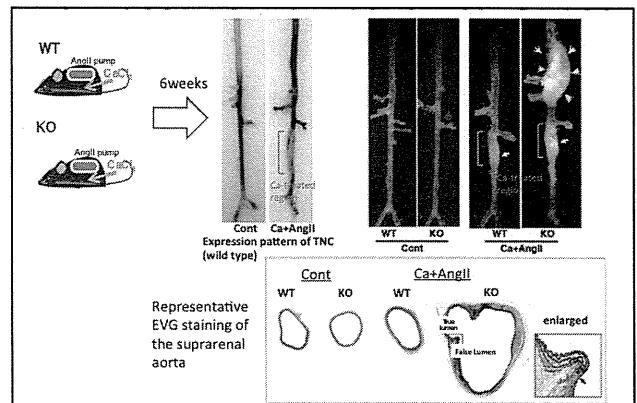
③大動脈瘤・解離モデル

TN-C レポーターマウスに AngiotensinII 投与すると血圧は上昇し、胸部大動脈に TN-C の発現が誘導された。腎動脈下大動脈に塩化カルシウム塗布するとその部位に TN-C 発現を伴う炎症、組織破壊がおこり、瘤が形成された。またその周囲の線維化に伴い組織硬化がおこり、上流の胸部大動脈に負荷がかかり TN-C 発現が誘導された。さらに、塩化カルシウム塗布と AngiotensinII

投与を組み合わせると、上流の胸部大動脈に強い圧負荷を生じ、TN-C の極めて強い発現誘導がみられた。

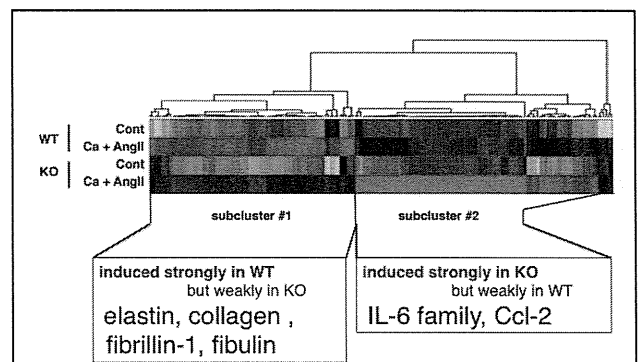


TN-C ノックアウトマウスにこの強い血行動態負荷をかけると、上部大動脈の拡張と血管壁の解離を発症した。



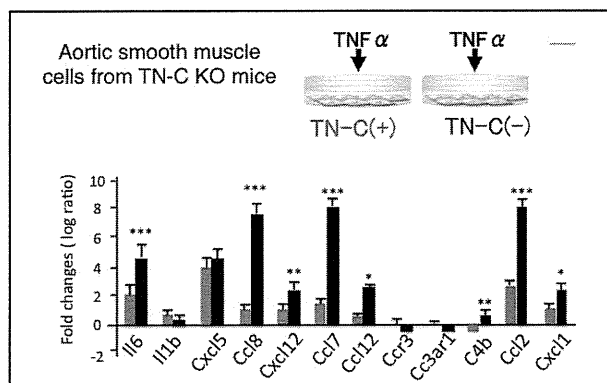
④トランスクリプトーム解析

刺激後解離発症前に上部大動脈のトランスクリプトーム解析を行なったところ、野生型ではコラーゲンおよびエラスチンの発現が亢進していたが、ノックアウトマウスではその応答が弱い一方で、種々のマトリックス・メタロプロテアーゼおよびケモカインの発現が亢進していた。



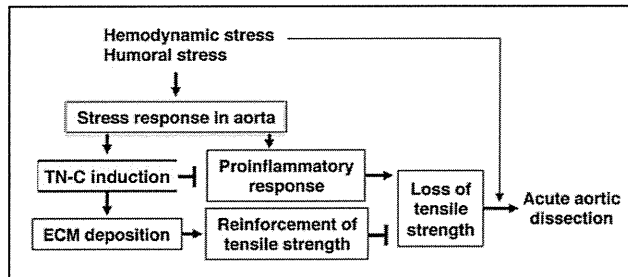
⑤培養平滑筋に対する TN-C の作用

マウスから得られた大動脈平滑筋細胞を TN-C 存在下または非存在下で培養した後に TNF α による炎症刺激を加えたところ、TN-C 非存在下ではより高いケモカイン発現応答を認めた。



D. 考察

種々のストレスに応答して発現する TN-C は、大動脈壁の柔軟性と強度を維持すると同時に破壊性炎症応答を減弱する分子的ショックアブソーバーであり、その機能不全は大動脈解離を引き起こすと考えられた (下図)。



本研究班の川崎病患者臨床前向き研究では、第2病日より第10-14病日に血中 TN-C の再上昇した群の方が動脈瘤形成の頻度が低かった。これは、急性期に炎症に伴って発現した TN-C は治療後、炎症の沈静化を反映して減少するが、修復期に再び発現して冠動脈拡大に対し保護的に働く可能性を示唆する。我々のノックアウトマウスを用いた結果は TN-C が炎症反応を抑制し、マトリックスの産生をあげて組織修復、補強を促進することにより血管保護的な作用を有するとの仮説を支持するものと思われる。

E. 結論

TN-C は炎症反応を抑制し、マトリックスの産生をあ

げて組織修復、補強を促進することにより血管保護的な作用を有すると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kimura T, Shiraishi K, Furusho A, Ito S, Hirakata S, Nishida N, Yoshimura K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Ikeda Y, Miyamoto T, Ueno T, Hamano K, Hiroe M, Aonuma K, Matsuzaki M, Imaizumi T and Aoki H. *Tenascin C protects aorta from acute dissection in mice.* **Sci Rep.** 4: 4051, 2014

2. 学会発表

- 1) 青木浩樹. 大動脈壁のストレス応答: 適応と不全適応. 第 91 回に本生学会大会、シンポジウム「ストレスに対する血管応答制御の分子機構」、熊本、2014 年 3 月 16-18 日
- 2) 青木浩樹. *Inflammation and tissue remodeling in aortic diseases.* 第 78 回日本循環器学会学術集会、東京、2014 年 3 月 21-23 日

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

班員	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
今中 恭子	Imanaka-Yoshida K, Yoshida T and Miyagawa-Tomita S	Tenascin-C in development and disease of blood vessels.	Anat Rec			in press
	Shiba M, Fujimoto M, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Taki W and Suzuki H. Tenascin-C Causes Neuronal Apoptosis After Subarachnoid Hemorrhage in Rats	Tenascin-C causes neuronal apoptosis after subarachnoid hemorrhage in rats.	Transl Stroke Res			in press
	今中恭子	心血管疾患におけるテネascin Cの機能—診断と治療への応用	医学のあゆみ	248	529-534	2014
	Nakajima Y and Imanaka-Yoshida K.	New insights into the developmental mechanisms of coronary vessels and epicardium.	Int Rev Cell Mol Biol	303	263-317	2013
	Suzuki H, Shiba M, Fujimoto M, Kawamura K, Nanpei M, Tekeuchi E, Matsushima S, Kanamaru K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T and Taki W.	Matricellular protein: a new player in cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage.	Acta Neurochir Suppl	115	213-8	2013
	Shiba M, Suzuki H, Fujimoto M, Shimojo N, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Kanamaru K, Matsushima S and Taki W.	Role of platelet-derived growth factor in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rats.	Acta Neurochir Suppl	115	219-23	2013
	Fujimoto M, Suzuki H, Shiba M, Shimojo N, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Kanamaru K, Matsushima S and Taki W.	Tenascin-C induces prolonged constriction of cerebral arteries in rats.	Neurobiol Dis	55	104-9	2013
阿部淳	Fukuda S, Ito S, Oana S, Sakai H, Kato H, Abe J, Ito R, Saitoh A, Takayama I.	Late development of coronary artery abnormalities could be associated with persistence of non-fever symptoms in Kawasaki disease	Pediatr Rheum.	11	28	2013

	Miyazono A, Abe J, Ogura M, Sato M, Fujimaru T, Kamei K, Ito S.	Successful remission induced by plasma exchange combined with leukocytapheresis against refractory systemic juvenile idiopathic arthritis	Eur J Pediatr.		Epub ahead of print	2013
廣江道昭	Nozato T, Sato A, Hirose S, Hikita H, Takahashi A, Endo H, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Aonuma K and Hiroe M.	Preliminary study of serum tenascin-C levels as a diagnostic or prognostic biomarker of type B acute aortic dissection.	Int J Cardiol	168	4267-9	2013
白石 公	Hoashi T, Kagisaki K, Miyazaki A, Kurosaki K, Shiraishi I, Yagihara T and Ichikawa H	Anatomic repair for corrected transposition with left ventricular outflow tract obstruction.	Ann Thorac Surg	96	611--20	2013
佐地勉	Oharaseki T, Yokouchi Y, Yamada H, Mamada H, Muto S, Sadamoto K, Miura N, Ohno N, Saji T, Naoe S and Takahashi K.	The role of TNF-alpha in a murine model of Kawasaki disease arteritis induced with a Candida albicans cell wall polysaccharide.	Mod Rheumatol	24	120-8	2014
	Takahashi K, Oharaseki T, Yokouchi Y, Naoe S and Saji T.	Kawasaki disease: basic and pathological findings.	Clin Exp Nephrol	17	690-3	2013
	Ogata S, Tremoulet AH, Sato Y, Ueda K, Shimizu C, Sun X, Jain S, Silverstein L, Baker AL, Tanaka N, Ogihara Y, Ikehara S, Takatsuki S, Sakamoto N, Kobayashi T, Fuse S, Matsubara T, Ishii M, Saji T, Newburger JW and Burns JC.	Coronary artery outcomes among children with Kawasaki disease in the United States and Japan.	Int J Cardiol	168	3825-8	2013
	Harada M, Akimoto K, Ogawa S, Kato H, Nakamura Y, Hamaoka K, Saji T, Shimizu T and Kato T.	National Japanese survey of thrombolytic therapy selection for coronary aneurysm: intracoronary thrombolysis or intravenous coronary thrombolysis in patients with Kawasaki disease.	Pediatr Int	55	690-5	2013

武田充人	Murakami T, Takeda A, Yamazawa H, Tateno S, Kawasoe Y and Niwa K.	Aortic pressure wave reflection in patients after successful aortic arch repair in early infancy.	Hypertens Res	36	603-7	2013
	Yamazawa H, Takeda A, Takei K and Furukawa T.	Primary prevention of sudden cardiac death in a low-risk child with familial hypertrophic cardiomyopathy: the role of cardiac magnetic resonance imaging.	Clin Res	103	75-7	2014
市田露子	Hirono K, Sekine M, Shiba N, Hayashi S, Nakaoka H, Ibuki K, Saito K, Watanabe K, Ozawa S, Higuma T, Yoshimura N, Kitajima I and Ichida F.	N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a predictor of reoperation in children with surgically corrected tetralogy of fallot.	Circ J	78	693-700	2014
	Mitani Y, Ohta K, Ichida F, Nii M, Arakaki Y, Ushinohama H, Takahashi T, Ohashi H, Yodoya N, Fujii E, Ishikura K, Tateno S, Sato S, Suzuki T, Higaki T, Iwamoto M, Yoshinaga M, Nagashima M and Sumitomo N.	Circumstances and outcomes of out-of-hospital cardiac arrest in elementary and middle school students in the era of public-access defibrillation.	Circ J	78	701-7	2014
須田憲治	Suda K, Kishimoto S, Takahashi T, Nishino H, Okamura H, Teramachi Y, Yokoyama T, Yasukawa H, Ohbu K, Imaizumi T, Matsuishi T	Circulating myeloid dendritic cell is decreased in the acute phase of Kawasaki disease.	J Clinic Experiment Cardiol			in press
	Teramachi Y, Suda K, Ogawa S, Kamiyama H, Hamaoka K.	Flying with giant coronary aneurysms caused by kawasaki disease.	nt J Cardiol.	168	4964-5	2013
吉村耕一	Yamashita O, Yoshimura K, Nagasawa A, Ueda K, Morikage N, Ikeda Y and Hamano K	Periostin links mechanical strain to inflammation in abdominal aortic aneurysm.	PLoS One	8	e79753	2013

青木浩樹	Kimura T, Shiraishi K, Furusho A, Ito S, Hirakata S, Nishida N, Yoshimura K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Ikeda Y, Miyamoto T, Ueno T, Hamano K, Hiroe M, Aonuma K, Matsuzaki M, Imaizumi T and Aoki H	Tenascin C protects aorta from acute dissection in mice.	Sci Rep	4	4051	2014
------	---	---	---------	---	------	------

IV. 付 録

平成 25 年度「炎症性動脈瘤形成症候群の新規診断法の確立に関する研究」班
第1回 班会議プログラム

日時:2013年5月10日(土)18:00~20:00

場所:〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1

国立国際医療研究センター国際医療協力研修センター4階 セミナー3,4

出席者

今中恭子	(三重大学)
松下竹次	(国立国際医療研究センター)
廣江道昭	(国立国際医療研究センター)
大熊喜彰	(国立国際医療研究センター)
吉兼由佳子	(福岡大学)
武田充人	(北海道大学)
菅沼栄介	(東海大学)
河村陽一	(防衛医科大学)
辻田由喜	(防衛医科大学)
土屋恵司	(日本赤十字社医療センター)

検討項目

1. 班構成の概要と目的、テネイン C の分子的背景の解説 (今中恭子)
2. 平成 23 年度「炎症性動脈瘤形成症候群の新規診断バイオマーカーの開発と診断基準の作成に関する研究」班 レトロスペクティブスタディ 成果報告 (大熊喜彰)
3. プロスペクティブスタディ プロトコールと進捗状況の確認 (大熊喜彰)
 - エントリー数、検体の保管
 - 非川崎有熱疾患の登録
 - 質疑応答
4. カンジダ・アルビカンスによる血管炎・動脈瘤モデルマウス実験進捗状況(吉兼由佳子)
4. その他
 - 本年度の活動計画
 - 川崎病学会との合同シンポジウム
 - 来年度以降の研究グループの展開

平成 25 年度「炎症性動脈瘤形成症候群の新規診断法の確立に関する研究」班
第2回 班会議プログラム

日時:2013年9月28日(土)17:00~18:30

場所:〒930-0084 富山県富山市大手町1-2
富山国際会議場 2F 205 号室

出席者

今中恭子	(三重大学)
阿部淳	(国立成育医療研究センター研究所)
松下竹次	(国立国際医療研究センター)
廣江道昭	(国立国際医療研究センター)
大熊喜彰	(国立国際医療研究センター)
白石公	(国立循環器病研究センター)
佐地勉	(東邦大学医療センター大森病院)
武田充人	(北海道大学)
須田憲治	(久留米大学)
吉兼由佳子	(福岡大学)
三谷義英	(三重大学)
菅沼栄介	(東海大学)
河村陽一	(防衛医科大学)
加藤太一	(名古屋大学)
布施茂登	(NTT 東日本札幌病院)
高橋啓	(東邦大学医療センター大橋病院)

検討項目

これまでの研究経緯と本年度の研究進捗状況

1. 班構成の概要と目的(今中恭子)
2. 臨床研究(大熊喜彰)
 - 2-1レトロスペクティブスタディ 平成23年度「炎症性動脈瘤形成症候群の新規診断バイオマーカーの開発と診断基準の作成に関する研究」成果報告
 - 2-2.プロスペクティブスタディ 平成25年度研究 進捗状況の確認
質疑応答
3. 動物実験進捗状況(吉兼由佳子)
質疑応答
4. その他
来年度以降の研究グループの展開

Articles in Press. Anatomical Record

Tenascin-C in development and disease of blood vessels

Kyoko Imanaka-Yoshida^{1,2}, Toshimichi Yoshida^{1,2} and Sachiko Miyagawa-Tomita³

1. Department of Pathology and Matrix Biology, Mie University Graduate School of Medicine

2. Mie University Research Center for Matrix Biology, Tsu, Mie 514-8507, Japan

3. Department of Pediatric Cardiology, Division of Cardiovascular Development and Differentiation, Medical Research Institute, Tokyo Women's Medical University, Tokyo 162-8666, Japan

Correspondence:

Kyoko Imanaka-Yoshida M.D., Ph.D.

Department of Pathology and Matrix Biology, Mie University Graduate School of Medicine, Tsu, Mie 514-8507, Japan

Tel. & Fax: +81-59-231-5009

E-mail: imanaka@doc.medic.mie-u.ac.jp

Running title: Tenascin-C and smooth muscle cells

Abstract

Tenascin-C (TNC) is an extracellular glycoprotein categorized as a matricellular protein. It is highly expressed during embryonic development, wound healing, inflammation and cancer invasion, and has a wide range of effects on cell response in tissue morphogenesis and remodeling including the cardiovascular system. In the heart, TNC is sparsely detected in normal adults but transiently expressed at restricted sites during embryonic development and in response to injury, playing an important role in myocardial remodeling. Although TNC in the vascular system appears more complex than in the heart, the expression of TNC in normal adult blood vessels is generally low. During embryonic development, vascular smooth muscle cells highly express TNC on maturation of the vascular wall, which is controlled in a way that depends on the embryonic site of cell origin.. Strong expression of TNC is also linked with several pathological conditions such as cerebral vasospasm, intimal hyperplasia, pulmonary artery hypertension, and aortic aneurysm/ dissection. TNC synthesized by smooth muscle cells in response to developmental and environmental cues regulates cell responses such as proliferation, migration, differentiation and survival in an autocrine /paracrine fashion and in a context-dependent manner. Thus, TNC can be a key molecule -in controlling cellular activity in adaptation during normal vascular development as well as tissue remodeling in pathological conditions.

Abbreviation

extracellular matrix, ECM; tenascin-C, TNC; vascular smooth muscle cell, VSMC; α -smooth muscle actin, α SMA; subarachnoid hemorrhage, SAH

Introduction

Living tissue is composed of multiple heterogeneous cells and extracellular matrix (ECM) synthesized by these cells. ECM provides the structural framework to mechanically support cell shape and position and to integrate mechanical forces generated inside individual cells and transmit them to the whole tissue. Furthermore, ECM biologically regulates cell function. Increasing attention has been directed to a unique functional category of ECM, matricellular protein, which does not contribute directly to structures such as fibrils or basement membranes, but rather modulates cell function by interacting with cell-surface receptors, proteases, growth factors, and other matrix molecules (Bornstein, 2009; Bornstein and Sage, 2002).

Tenascin-C (TNC) is a prototype member of matricellular proteins along with thrombospondin-1 (TSP-1) and SPARC (Bornstein, 1995; Sage and Bornstein, 1991). TNC is highly expressed during embryonic development, wound healing, inflammation and cancer invasion, and has a wide range of effects on cell adhesion, motility, differentiation, growth control, and extracellular matrix production and deposition. As in the case of target disruption of several other matricellular protein genes, TNC knockout mice do not display distinct phenotypes (Forsberg et al., 1996; Saga et al., 1992). However, accumulating data based on detailed studies of disease models using a TNC knockout have demonstrated that TNC could play an important role in the development and remodeling of various tissues (reviewed in (Chiquet-Ehrismann and Tucker, 2011)). Several other excellent reviews have been directed toward understanding the role of TNC in cancer invasion and inflammation (Brellier and Chiquet-Ehrismann, 2012; Midwood et al., 2011; Midwood and Orend, 2009; Udalova et al., 2011; Van Obberghen-Schilling et al., 2011). In this review, we will focus on the

role of TNC in cardiovascular development and disease, highlighting its biological significance for vascular smooth muscle cells.

Tenascin-C

Tenascins are a family of four multimeric extracellular matrix glycoproteins: tenascin-C, X, R and W (Chiquet-Ehrismann and Tucker, 2011; Tucker et al., 2006). The best described member of the family is tenascin-C (TNC), which is a huge molecule of about 220-400 kDa as an intact monomer and assembled with a hexamer. The molecule consists of an N-terminal assembly domain, followed by EGF-like repeats, constant and alternatively spliced fibronectin type III repeats, and a C-terminal fibrinogen-like globular domain (Fig. 1). Each domain of TNC interacts with other matrix molecules and cell surface receptors including integrins $\alpha 9\beta 1$, $\alpha v\beta 3$, and $\alpha v\beta 6$, toll-like receptor 4 (TLR-4) and syndecan-4, and transmits multiple signals (also see (Midwood and Orend, 2009; Orend and Chiquet-Ehrismann, 2006)).

Regulatory mechanism of tenascin-C expression

Strong expression of TNC is found in the embryo near migrating cells, at sites of epithelial–mesenchymal interactions, and also in adult tissue, for example, in the cancer stroma or at sites of tissue repair and regeneration associated with inflammation. Gene expression of TNC is tightly regulated dependent on the tissue microenvironment; in particular, various growth factors and many signaling pathways are involved in the regulation of TNC expression (reviewed in (Tucker and Chiquet-Ehrismann, 2009)).

The promoter region of TNC has several binding sites for transcription factors, including Prx1 (activated by FAK signaling) (McKean et al., 2003), Ets (Watanabe et al.,

2003), AP1 elements(activated via ERK/MAPK) (Chiquet-Ehrismann et al., 1995; Chiquet-Ehrismann et al., 1994), and Smad 2/3(Jinnin et al., 2004).

Furthermore, it is well recognized that mechanical stress is an important modulator of the expression of TNC. Indeed, TNC is often expressed at sites subjected to mechanical stress, such as myotendinous and osteotendinous junctions (Jarvinen et al., 2000), and its expression is downr-egulated by immobilizing tendons while load-induced bone remodeling and muscle overload up-regulates TNC expression (Fluck et al., 2000; Mackey et al., 2011; Mikic et al., 2000; Webb et al., 1997). *In vitro*, mechanical strain induces tenascin-C expression in fibroblasts (Asparuhova et al., 2011; Asparuhova et al., 2009) and vascular smooth muscle cells (Feng et al., 1999).

The molecular pathway of the mechano-induction of TNC has been extensively studied in fibroblasts. Chiquet and coworkers(Chiquet et al., 2009) have elegantly demonstrated a RhoA-mediated signaling axis of TNC induction (Fig. 2). In culture, cyclic tensile strain activates RhoA in fibroblasts, depending on integrin β 1 (Chiquet et al., 2007) and integrin-linked kinase (ILK) (Maier et al., 2008), which causes the reduction of monomeric G-actin by inducing actin assembly and stress fiber formation (Ridley and Hall, 1992). Depletion of the G-actin pool frees MAL/myocardin-related transcription factor-A (MRTF-A)/ megakaryoblastic leukemia-1 (MKL1) to enter the nucleus (Asparuhova et al., 2009), which induces TNC expression partly depending on serum response factor (SRF) (Asparuhova et al., 2011; Asparuhova et al., 2009). This RhoA-mediated actin signaling activated by mechanical stimulation requires pericellular fibronectin (Lutz et al., 2010). Meanwhile, exogenous TNC interferes with fibronectin-mediated RhoA activation (Wenk et al., 2000), destabilizes actin stress fibers through down-regulation of tropomyosin-1(Ruiz et al.,

2004), and finally suppresses TNC transcription (Lutz et al., 2010), creating a negative feedback loop controlling TNC expression.

Moreover, it is noteworthy that TNC itself is an elastic molecule that can be stretched to several times its resting length *in vitro* (Marin et al., 2003; Oberhauser et al., 1998), and may contribute to tissue elasticity and protect against mechanical stress as a shock absorber.

Tenascin-C in cardiovascular system

The characteristic of spatiotemporally restricted expression during embryonic development and tissue remodeling in response to injury is clearly observed in the heart. During the development of the heart, TNC is transiently expressed at restricted sites during several important stages such as differentiation of cardiomyocytes (Imanaka-Yoshida et al., 2003). It is sparsely detected in the normal adult myocardium, but reappears under pathological conditions associated with inflammation. In various heart diseases such as myocardial infarction, myocarditis and hypertension, TNC synthesized by interstitial non-cardiomyocytes plays an important role in tissue remodeling by weakening the adhesion of cardiomyocytes to connective tissue, promoting the recruitment of myofibroblasts, and modulating inflammatory responses (reviewed in (Imanaka-Yoshida, 2012; Imanaka-Yoshida et al., 2004; Midwood et al., 2011; Okamoto and Imanaka-Yoshida, 2012) Consequently, by taking advantage of its specific expression, TNC can be applicable as a biomarker and a molecular imaging target for diagnosis of disease activity (Imanaka-Yoshida, 2012; Okamoto and Imanaka-Yoshida, 2012). In contrast, TNC in the vascular system is more complex. In general, the expression of TNC in the normal vascular wall is low and upregulated in

pathological conditions; however, positive immunostaining of TNC is sometimes seen at branching sites of normal muscular vessel walls (Mackie et al., 1992). Constitutive expression of TNC is also detected in the medial layer of the abdominal aorta of normal adult mice but not in the thoracic aorta (Kimura et al., in press). TNC-producing cells in the vascular wall are predominantly smooth muscle cells in media.

Vascular development and tenascin-C

Smooth muscle is an involuntary non-striated muscle found in various organs/tissues, such as the bladder, uterus, gastrointestinal tract, bronchus and medial layer of blood vessels. Vascular smooth muscle cells (VSMCs) contribute to the contraction and relaxation of the vessels, controlling blood pressure and blood flow. VSMCs are derived from multiple progenitor cell types and the diversity of precursor cells may contribute to various cellular function of the vascular wall (Majesky, 2007, 2013; Majesky et al., 2011; Xie et al., 2011; Xie et al., 2013). VSMC populations with different embryonic origins are observed not only in different vessels but also within segments of the same vessel, located in discrete groups within the vessel (Majesky, 2013; Xie et al., 2013).

Development of aorta and tenascin-C

The origin of VSMCs of the aorta is heterogeneous (Fig. 3).

The second heart field gives rise to VSMCs of the root of the aorta as well as the pulmonary trunk (Waldo et al., 2005). The cardiac neural crest contributes ascending and arch portions of the aorta and its branches, the innominate and right subclavian arteries, right and left common carotid arteries, and ductus arteriosus, but not left and right pulmonary arteries. The origin of VSMCs of the descending aorta is more complex.