

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10242

研究課題名(和文)メカニカルストレス応答因子に着目した新規大動脈瘤治療法の開発

研究課題名(英文)Development of the therapy for AAA induced by mechanical stress

研究代表者

谷山 義明(TANIYAMA, YOSHIAKI)

大阪大学・医学系研究科・招へい教授

研究者番号：60372611

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：大動脈瘤は、喫煙との関係が報告されているものの外科的手術による治療法しかない状態で病態の進行を抑制する内科的治療法の開発が望まれている。我々はマウス大動脈瘤モデルを網羅的に解析してペリオスチン遺伝子(PN)がメカニカルストレスに反応して増加していることを確認した。そこで、2種類のAAAモデルとPNKOマウスを用いてPN抑制がAAAの改善につながることを確認した。また、臨床における禁煙前後の血液サンプルの解析によって喫煙にて血中PNが上昇することを確認した。AAAの新規標的としてPN抑制の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The development of the medical therapy to restrain pathologic progress in the state that the aortic aneurysm has only the surgical treatment. We analyze a mouse aortic aneurysm model cyclically; and periostin gene (confirmed that PN) increased in response to mechanical stress.) Therefore I confirmed that PN restraint led to improvement of the AAA using two kinds of AAA models and PNKO mice. In addition, I confirmed that blood PN rose by smoking by the analysis of the blood sample before and after the clinical smoking cessation. Possibility of the PN restraint was suggested as a new target of the AAA.

研究分野：難治性循環器疾患の治療

キーワード：大動脈瘤 ペリオスチン メカニカルストレス

1. 研究開始当初の背景

1. 腹部動脈瘤に対する有効な降圧治療は存在しない

腹部動脈瘤 (AAA) は破裂を伴う致死性の疾患である。瘤径が 5cm 以上の高リスク AAA に対しては人工血管置換術・ステントグラフト挿入術による破裂予防効果が証明されている。ステントグラフト挿入により大動脈瘤内圧は平均体血圧の 50% 以下に低下することが知られているが、このような強力な瘤内の降圧治療を行っても必ずしも瘤径が退縮するわけではない。実際に臨床において心血管イベントに対して十分な実績をもつ ブロッカー、RAS 系薬剤、Ca 拮抗薬等を用いても AAA の瘤径拡大を抑制することはできない (*ESVS AAA guideline*)。

2. AAA 形成と血行力学的負荷の相関

血管壁局所の張力は腹部動脈瘤の破裂と関連することが血管壁のバイオメカニクスの解析 (*Comput Methods Biomech Biomed Engin. 2008*) および小規模臨床研究 (*Ann Vasc Surg 2000;14:152 e 7.*) で示唆されている。我々は異なる 2 つの AAA モデル (エラストーゼ:PPE および Ang II) を用い、血管壁局所の伸展度と AAA 形成・成長過程の関連を評価した。右図のようにメカニカルストレスの強い部分で MMP 活性が上昇していることがわかる。つまり、AAA は血圧自体が高いことが誘導するのではなく、メカニカルストレスの上昇によって血管のエラスチン巢の破壊が進行し血管拡張しているのである。そこで申請者は AAA においては血管の血圧、壁張力に対する感受性が高まり、メカニカルストレス慢性炎症が持続することで血管リモデリングが進行するという仮説を立てた。

2. 研究の目的

腹部動脈瘤 (AAA) は大動脈の病的拡張の末に破裂に到る致死性の疾患であるが、有効

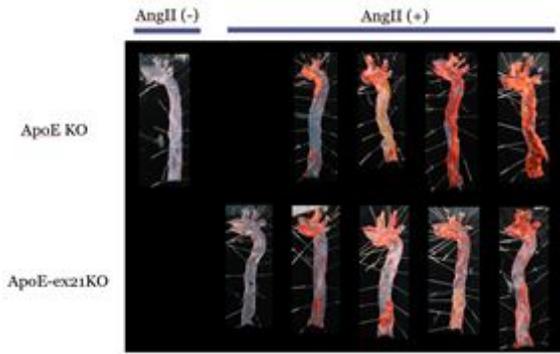
な薬物治療は未だ存在しない。我々は AAA 病態では血管の血圧・壁張力に対する感受性が高まり、慢性炎症が持続することで血管リモデリングが進行すると考えている。一方、我々は心臓においてペリオスチン遺伝子 (PN) がメカニカルストレスによって発現し、心拡大を誘導することを報告し、複数のマウスの AAA モデルでの PN の抑制による動脈瘤拡大抑制効果を確認している。本研究では AAA 病態における PN の機能の解析し、新しい治療起点を確立することが目的である。

3. 研究の方法

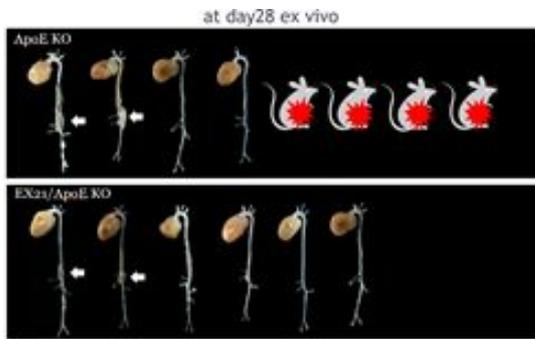
- 1、アンジオテンシン II 負荷 AAA モデルにおいて ApoEKO マウスに対して ApoEKO/PNKO (DKO) マウスが大動脈の拡大、血管破裂、動脈硬化を抑制するかどうかを明らかにする。
- 2、ニコチン負荷 AAA モデルにおいて ApoEKO マウスに対して ApoEKO/PNKO (DKO) マウスが大動脈の拡大、血管破裂、動脈硬化を抑制するかどうかを明らかにする。
- 3、禁煙する前と後の臨床血液サンプルを解析して、喫煙によって血清 PN が上昇するかを検討する。さらには、臨床サンプルを用いて miR を網羅的に解析する予定。
- 4、PN の変化が血清で見られない可能性もあるので、その場合には AAA の他の成因として miRNA が関与している可能性があり臨床サンプルを用いて網羅的な解析を行う。

4. 研究成果

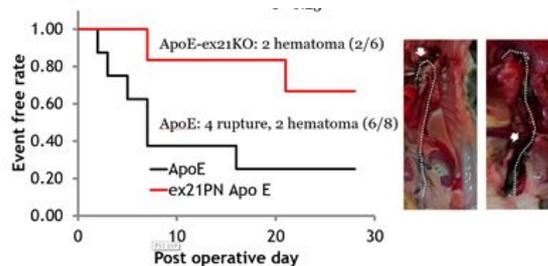
APOEKO マウスにアンジオテンシン II 負荷を与えて動脈瘤を作成するモデルで検討した結果を下図に示す。動脈硬化をオイルレッド O にて評価したが、APOEKO/PNKO の DKO マウスで APOEKO マウスと比べて有意に動脈硬化の程度が抑制されていた。



次に、同モデルで AAA の破裂する割合を比較したところ、動脈硬化と同様に APOEKO/PNKO のDKO マウスで APOEKO マウスと比べて有意に AAA の破裂が抑制されていた。(下図)



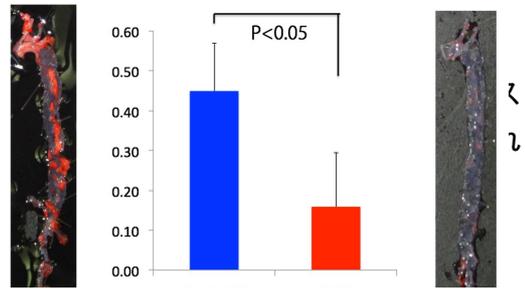
2 群の生存曲線を提示すると、下記のように AAA の破裂に加えて血種によって同モデルの死亡が確認されたが、APOEKO/PNKO のDKO マウスで APOEKO マウスと比べて有意に生存率の改善が見られた。(下図)



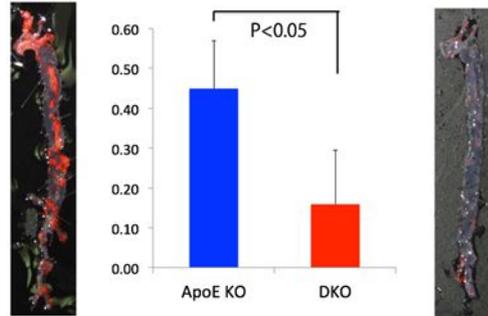
次に、APOEKO マウスにニコチンを付加する喫煙 AAA モデルでの影響を解析した。

下図に示すように喫煙 AAA モデルにおいても

PN e21/ApoE DKO + Nicotine

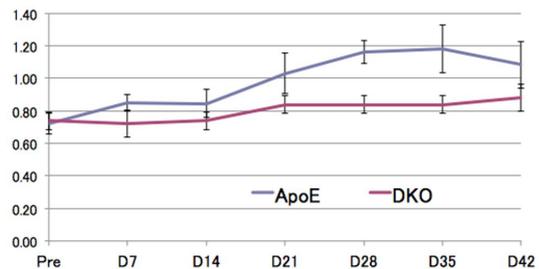


PN e21/ApoE DKO + Nicotine



次に、喫煙 AAA モデルでの AAA の大きさを超音波で評価して経時的な変化を検討した。

PN e21/ApoE DKO + Nicotine

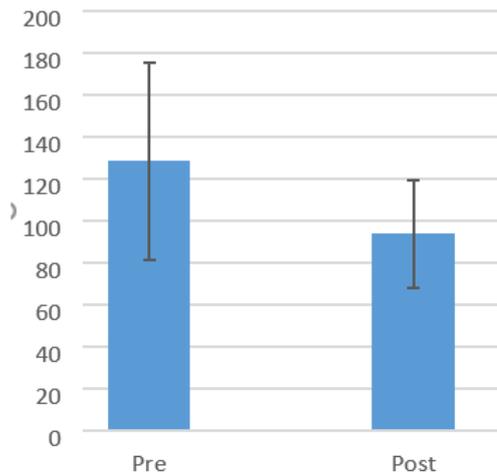


• Nicotineを7mg/kg/dayのdoseで42日間投与 (n=10)

上記のように2つのAAAモデルを用いて、ペリオスチンの影響を検討したが PNKO マウスによって両モデルともにペリオスチンを消去することによって動脈瘤の拡大および動脈硬化が抑制されていることが分かった。

次に、臨床の禁煙外来において禁煙前後の血液サンプルを用いて血中のペリオスチン濃度を測定したところ、下記に示すように禁煙によって血中のペリオスチンは有意に低下

していることが分かった。



また、同サンプルを用いて様々なmiRNAをPCRによって評価し、禁煙によって有意に変動するものを網羅的に探索したが、残念ながら統計的な有意差をしめすmiRNAを見つけることはできなかった。

結論

今回の結果から、臨床において禁煙によって血中のペリオスチンは有意に低下する。つまり、喫煙によって血中ペリオスチンが上昇することが示唆される。

また、2つのマウス動脈瘤モデルにおいてペリオスチンの抑制によって動脈瘤および動脈硬化の改善を観察することができた。

以上のことから臨床における動脈瘤の治療標的としてペリオスチン抑制療法の可能性が示唆された。

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0件)

〔学会発表〕(計3件)

脳心血管抗加齢研究会 2015 (11.29.大

阪) アンジオテンシン II を用いたマウス腹部大動脈瘤モデルにおける Periostin の機能解析、大津 礼、東 純哉、谷山義明、眞田文博、楽木宏実、森下竜一

脳心血管抗加齢研究会 2016 (12.17.東京) ニコチンを用いたマウス腹部大動脈瘤モデルにおける Periostin の機能解析、大津 礼、東 純哉、谷山義明、眞田文博、楽木宏実、森下竜一

脳心血管抗加齢研究会 2017 (12.16.大阪) アンジオテンシン II とニコチンを用いたマウス腹部大動脈瘤モデルにおける Periostin の機能解析、大津 礼、東 純哉、谷山義明、眞田文博、楽木宏実、森下竜一

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

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

<http://www.cgt.med.osaka-u.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷山義明 (TANIYAMA YOSHIKI)

研究者番号：60372611

大阪大学大学院医学系研究科 招聘教授

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()