

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19284

研究課題名(和文)自己抗体に着目した新規腹部大動脈瘤発症機転の検討

研究課題名(英文) Impact of auto-antibody in the development of abdominal aortic aneurysm

## 研究代表者

中神 太志(Nakagami, Futoshi)

大阪大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60739176

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：Angiotensin II持続投与により、高齢マウスでは若齢マウスに比べ、AAA形成を来しやすいことを確認した。高齢、若齢マウス、それぞれの血清から得られた抗体を若齢マウスに投与後、Angiotensin IIの持続投与を行った結果、高齢マウス抗体投与群においてのみ、AAA形成が惹起された。また、高齢マウスのIgGを酵素的に断片化すると、AAAを惹起しないこと、補体のC3を欠損したマウスにおいては、高齢マウス抗体はAAA形成を惹起しないことを示した。これらから、加齢により、抗体がAAA形成の惹起作用を持つこと、またその作用には補体の活性化を必要とすることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Ang II infusion (1 ng/ml/min) for four weeks successfully induced aneurysm in only old mice (1-1.5 years old), but not in young mice (6-8 weeks) and the diameter of the abdominal aorta in old mice was significantly dilated compared to young mice. As an antibody injection model, the antibodies of old or young mice serum are isolated by protein G column and injected to young mice followed by Ang II infusion for four weeks. The old mice antibodies group elicit the development of abdominal aneurysm, but young group did not. The enzymatically fragmented old mice antibodies injection could not elicit aneurysm. And the old mice antibodies injection to C3 knock out mice could not induce aneurysm. These suggest the complement system works as the key role to elicit aneurysm in this model. Taken together, aged mice antibody may have the ability to induce an abdominal aneurysm to activate the complement system.

研究分野：加齢医学

キーワード：腹部大動脈瘤 自己抗体 加齢

### 1. 研究開始当初の背景

腹部大動脈瘤 (AAA) は罹患率、致死率共に高い疾患であり、病態理解には今なお不明な点が多い。ヒトの AAA の組織では、リンパ球や単球の浸潤が見られ、また抗体や補体の沈着が認められている (Jagadesham, *cell press*, 2008)。また、マウスでは、好中球の除去や補体の除去によって、AAA 形成が抑制されることが報告されている (Eliason, *Circulation*, 2005) (Pagano, *Circulation*, 2010)。これらから、免疫機構が AAA の病態に関わることが示唆されてきた。加齢は AAA の危険因子であるが (Singh, *Am. J. Epidemiol*, 2001) その機序については不明な点が多い。一方、ヒト、マウスの双方で加齢とともに自己抗体が増えることが知られているが (Nagele, *PLoS ONE*, 2013) (Hayashi, *Clin. exp. Immunol.*, 1989)、その機能については不明である。

### 2. 研究の目的

本計画においては、自己免疫、特に自己抗体に着目し、加齢における動脈瘤形成における、自己抗体の関与について検討を行う。

### 3. 研究の方法

加齢が動脈瘤発症の要因になることを確認するため、まず、高齢マウスを用いて検討を行う。浸透圧ポンプで Angiotensin II を 1.44mg/kg/day で 28 日間、持続的に皮下投与する腹部大動脈瘤のモデル (以下、Ang II モデル) を用いて検討する。動脈瘤形成については、超音波検査にて経時的に大動脈径のフォローを行うとともに、サクリファイス時に肉眼的にも確認を行う。

次に、高齢マウスの血清からカラムを用いて抗体を抽出し、純度を SDS-PAGE、CBB 染色で行う。抽出された抗体を若齢マウスに投与後、同様に Ang II モデルを用い、高齢マウスの抗体による動脈瘤発症を確認する。

また、抗体を断片化したものを作成・投与し、抗体による作用のみでこの現象が生じていることを確認する。

メカニズムにおいて、補体の関与を確認するため、C3 欠損マウスにたいして、高齢マウス抗体を投与し、同様に Ang II モデルにて、動脈瘤の形成を来すか確認を行う。

### 4. 研究成果

#### 1) 高齢マウスでの AAA 発症

野生型 (C57Bl/6J) の 1-1.5 年齢の高齢マウスでは、Ang II モデルで動脈瘤の形成が見られたのに対し、8-10 週齢の若齢マウスにおいては、動脈瘤の形成は認められなかった (図 1A、B、C)。

#### 2) 抗体による動脈瘤形成惹起

高齢マウス、若齢マウスの其々の血清から抗体を抽出した。純度は SDS-PAGE、CBB 染色で確認した (図 2)。それらの抗体を若齢野生型マウスに投与後に Ang II モデルを行ったところ、動脈瘤形成を認めた。一方で、若齢マウスから抽出された抗体では同様の現象は認められなかった (図 3A、B、C)。

### 3) メカニズムの検討

酵素的に断片化されたフラグメント抗体を投与したところ、Ang II モデルにおける動脈瘤形成は認められなかったことから、抗体だけが動脈瘤形成にかかわっていることが示唆された。また、高齢野生型マウスの抗体を C3 欠損マウスに投与したが、Ang II モデルでの動脈瘤形成を認めなかったことから、この現象には補体が関与していることが示唆された (図 4A、B、C)。

### 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 2 件)

第 44 回日本心臓血管作動物質学会年会  
第 24 回日本血管生物学会学術集会

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

名称：  
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

### 6. 研究組織

(1) 研究代表者  
中神太志 (Futoshi Nakagami )  
大阪大学医学部附属病院卒後教育開発センター

研究者番号：607391762

(2) 研究分担者 なし  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし

( )

研究者番号:

(4)研究協力者 なし  
( )

図 1 A

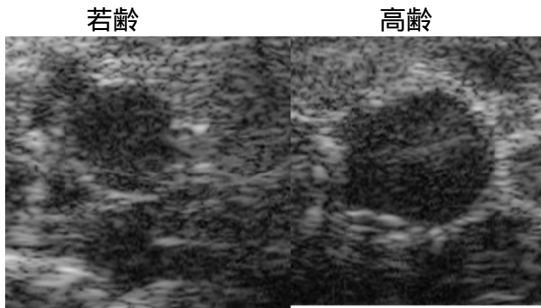


図 1 B

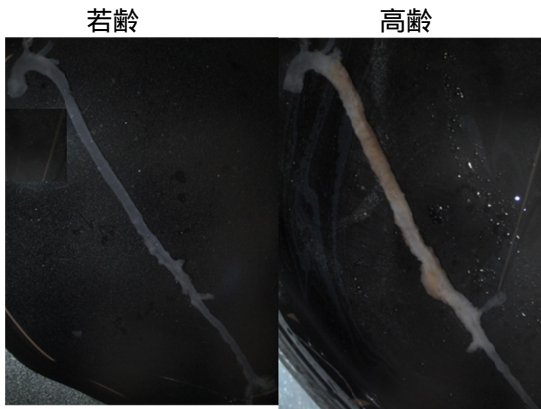


図 1 C

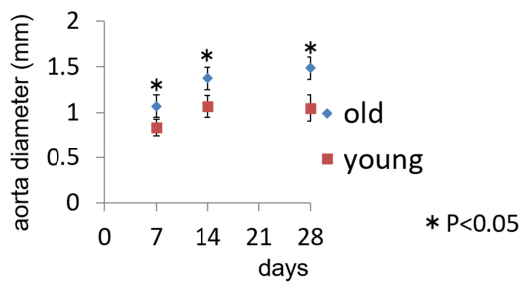


図 2

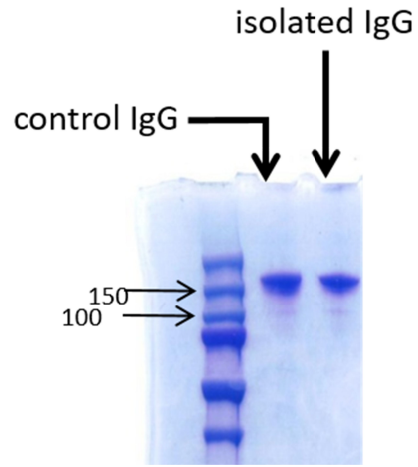


図 3A

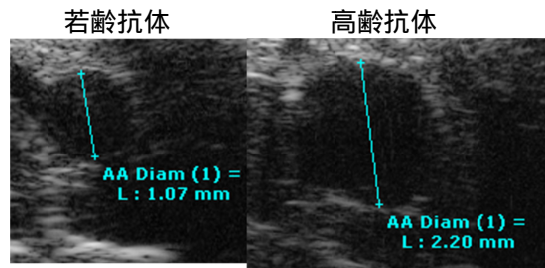


図 3B

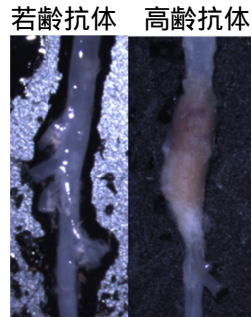
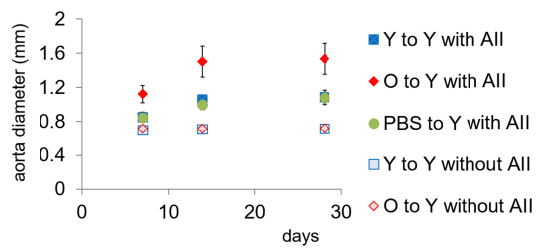
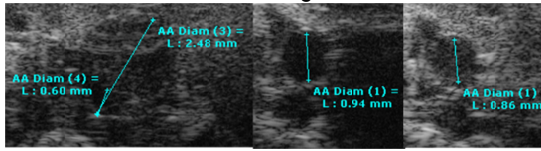


図 3C



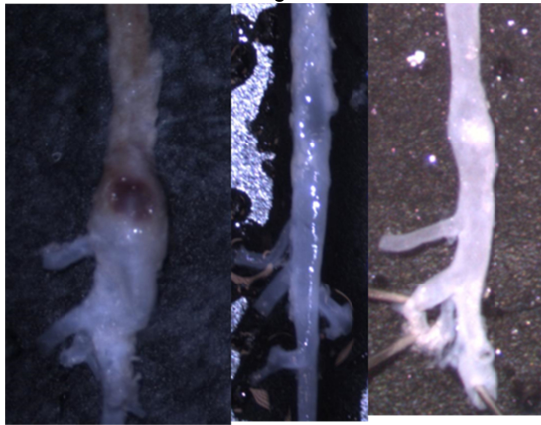
☒ 4A

Old Ab to wild      fragment      C3 K/O



☒ 4B

Wild      Fragment      C3 K/O



☒ 4C

