

令和 2 年 5 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10757

研究課題名（和文）腹部大動脈瘤におけるVasohibin-2の分子機構の解明

研究課題名（英文）Molecular mechanism of Vasohibin-2 on development of abdominal aortic aneurysm

研究代表者

内田 治仁（UCHIDA, HARUHIITO）

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：00550857

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：血管新生制御因子Vasohibin-2が腹部大動脈瘤の発症・進展に与える影響について基礎的に検討をした。マウスにVasohibin-2を過剰発現させたマウスとコントロールマウスそれぞれに腹部大動脈瘤を惹起したところ、両群間で腹部大動脈瘤の発症・進展に有意な差を認めなかった。確認のため組織学的・分子生物学的な手法でタンパク発現などを検討したが、同様に両群間に有意な差を認めなかった。以上から、Vasohibin-2は腹部大動脈瘤の発症・進展には影響を与えないことが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化する日本社会において、大動脈瘤および解離は、死因の10位前後に毎年ランクインする大変重篤な疾患である。今後のますますの高齢化に伴い、患者数およびそれによる死亡数がさらに増加する可能性が高いため、大動脈瘤破裂による死亡回避のための新規治療開発が喫緊の課題である。今回Vasohibin-2という分子に着目し、腹部大動脈瘤の発症・進展に与える影響を様々に検討したが、残念ながらこの分子は、腹部大動脈瘤の発症・進展にあまり影響がないことがわかった。今後別の分子に着目した新たな治療戦略の開発が必要である。

研究成果の概要（英文）：The effect of Vasohibin-2, an angiogenesis regulator, on the development and progression of abdominal aortic aneurysm was fundamentally examined. When abdominal aortic aneurysm was induced in each of the mice in which Vasohibin-2 was overexpressed and the control mice, no significant difference was observed in the onset and progress of abdominal aortic aneurysm between the two groups. To confirm the result, protein expression was examined by histological and molecular biological approaches, but similarly no significant difference was observed between the two groups. Taken together, we found that Vasohibin-2 does not affect the development nor progression of abdominal aortic aneurysm.

研究分野：脈管額

キーワード：腹部大動脈瘤 Vasohibin-2

1. 研究開始当初の背景

大動脈瘤(および解離)は、厚生労働省発表による平成27年度の日本人の死因別順位において第9位となっている極めて重要な疾患である。その疾患の性質上、大動脈瘤の破裂による急死という極めて過酷な経過をたどるにもかかわらず、現在なおその原因及び病態の解明が未解決のままであり、治療法も外科的手術などの限られたものにとどまっている。大動脈瘤の発症の危険因子としては、喫煙、性別(男)と加齢、大動脈瘤の家族歴、が最も強いものとして挙げられる。また、大動脈瘤の進展の危険因子としては、上記の他に、高血圧、脂質異常症などの古典的な動脈硬化の危険因子なども挙げられる。これらをふまえて、現在大動脈瘤の破裂による突然死の予防として、禁煙など生活習慣の是正、 β 遮断薬を中心とした血圧コントロール、脂質異常症の是正のほか、最近ではRAS抑制薬に予防効果があるとの報告があるものの、大動脈瘤の発症・進展および破裂を阻止するには至っていない。

腹部大動脈瘤の進展過程において、血管新生が関係しているとする報告が散見される。具体的には、幼弱な新生 vasa vasorum が形成され、血管壁が脆弱なため vasa vasorum の rupture が起こり、それが引き金で大動脈の解離、そして破裂に至るとされる。血管新生を調整することで腹部大動脈瘤の発症や進展、重症化を調整できる可能性が示唆されている。

最近、Vasohibin という血管新生抑制因子が報告された。VEGF による血管新生因子の刺激を受けた細胞からフィードバック調節機構により分泌される。Vasohibin には主に2つのアイソフォーム (Vasohibin-1、Vasohibin-2) が知られている。このうち Vasohibin-2 は、腫瘍組織において特に血管新生が盛んな箇所強く発現しており、骨髄由来の単核球細胞から、sprouting front と呼ばれる血管新生の最前線で分泌される。血管新生抑制効果が知られている Vasohibin-1 とは異なり、血管新生を促進する働きがあるといわれている。これまでに Vasohibin-2 発現の下方制御により血管新生の抑制を介して抗腫瘍効果が報告されている。しかし、Vasohibin-2 が腹部大動脈瘤形成にどのような影響を与えるかについては全く知見がなかった。

2. 研究の目的

上記研究背景から、Vasohibin-2 が血管新生の調節を介して、腹部大動脈瘤における発症・進展に影響するのではないかと考えるに至った。腹部大動脈瘤の発症・進展における Vasohibin-2 の意義について着目し、その分子機構について研究を展開し、腹部大動脈瘤に対する新規治療法開発への足がかりとすることを目的とした。

3. 研究の方法

上記仮説と研究目的を検討するために、疾患動物モデルを用いて以下の1~4の検討を行うことを当初計画した。

1) 腹部大動脈瘤モデルとして、高脂血症モデルマウスに AngII を持続投与するモデルを使用した。腹部大動脈瘤モデルマウスを作成し、マウスの腹部大動脈における Vasohibin-2 の発現、大動脈瘤のサイズや腹部大動脈の組織学的・分子生物学的解析を行い、大動脈瘤のないコントロール群と比較検討する。

2) adenovirus vector を用いて human Vasohibin-2 をマウスに投与することで、Vasohibin-2 が過剰発現したマウスを作成した。このマウスを用いて腹部大動脈瘤を作成し、通常の腹部大動脈瘤モデルと比較して腹部大動脈瘤発症・進展への影響の検討を行う (Figure 1)。

3) Vasohibin-2 ノックアウトマウスに AngII を投与し、腹部大動脈瘤発症・進展への影響の検討を行う。

4) Vasohibin-2 が血管壁構成細胞(血管内皮細胞および血管平滑筋細胞)およびマクロファージにおける炎症制御機構およびそれによる細胞外基質の調節機構の検討を行うことで、腹部大動脈瘤発症・進展における Vasohibin-2 の重要性と分子機構を明らかにする。

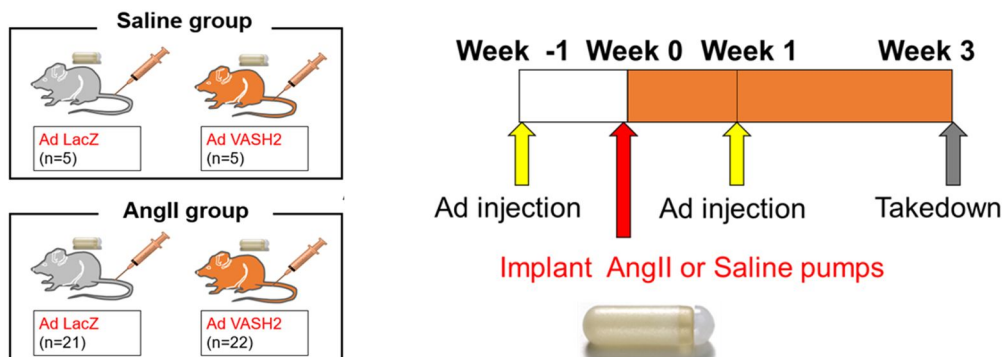


Figure 1. 研究デザイン

4. 研究成果

Vasohibin-2 の腹部大動脈瘤発症・進展に与える影響を *in vivo* で明らかにするために、まず 2) の検討から行った。

< Vasohibin-2 過剰発現の確認 >

ApoE KO マウスに human Vasohibin-2 を投与した。Adenovirus が狙い通り感染し Vasohibin-2 が過剰に発現していることを確認するために、肝臓タンパクを用いて Western blotting を行った。Human Vasohibin-2 を投与したマウスの肝臓では、Vasohibin-2 のタンパク発現が認められ、コントロールベクター (LacZ) を投与したマウスの肝臓では Vasohibin-2 のたんぱく発現は認められなかった。また、Vasohibin-2 過剰発現マウスおよびコントロールベクター投与マウスそれぞれにおける血中 VEGF の濃度を測定したところ、Vasohibin-2 過剰発現マウスでは高濃度の VEGF が測定された。コントロールベクター投与マウスでは血中 VEGF は検出感度以下だった。以上から、マウスにおける Vasohibin-2 過剰発現が成功したマウスであることが確認された。

< 腹部大動脈瘤モデルマウスでの Vasohibin-2 の影響 >

そこで、コントロールベクター投与マウスと、Vasohibin-2 過剰発現マウスのそれぞれに、Saline あるいは AngII を投与し、腹部大動脈瘤の発症・進展に与える影響を検討した。どちらの群も Saline 投与群では腹部大動脈瘤の発症は認められなかった。AngII 投与すると、コントロールベクター投与マウスでは既報通り約 80% のマウスに腹部大動脈瘤が形成された。予想に反して、Vasohibin-2 過剰発現マウスでも同程度に腹部大動脈瘤が形成された (Figure 2)。腹部大動脈瘤の重症度に群間で差がなかった (Figure 3)。マウスの死亡率は両群とも同程度であった (約 10%)。組織学的な重症度も両群で明らかな差は認められなかった。以上から、Vasohibin-2 過剰発現は、腹部大動脈瘤の発症・進展に影響を与えない、という結論になった。

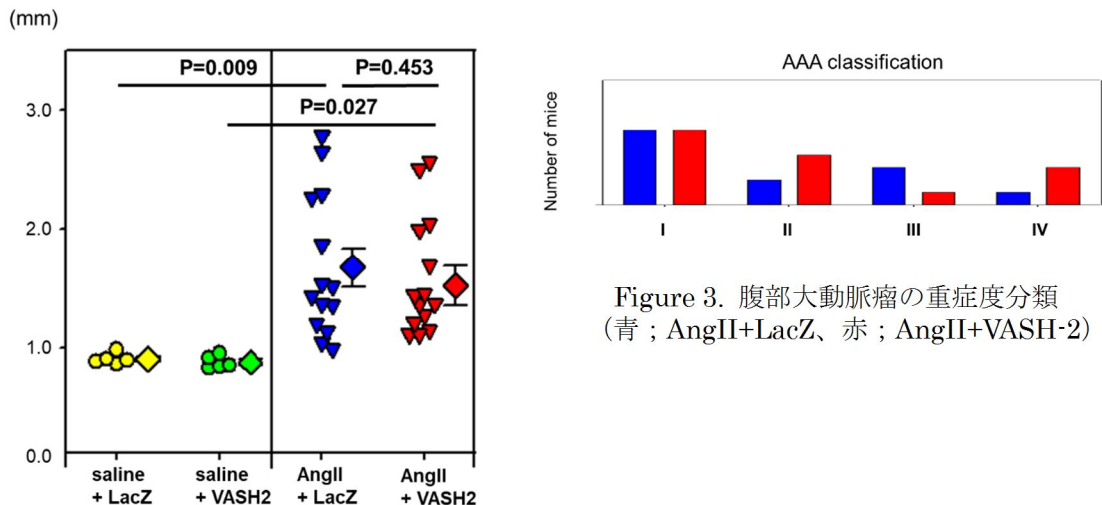


Figure 2. 腹部大動脈径

< Vasohibin-2 過剰発現が組織におけるアポトーシスに与える影響 >

マウスでの検討が、当初の予想と反する結果になったことから、計画を変更し分子生物学的にマウスの血管で起こっている変化について検討を行った。

Figure1 と同様にマウスの大動脈モデルを作成し、大動脈組織でのアポトーシスに関する検討を、血管組織における cleaved-caspase3 のタンパク発現として western blot にて評価したところ、Vasohibin-2 の有無で発現に差は認めなかった。

以上の結果から、Vasohibin-2 は腹部大動脈瘤の発症・進展には影響を与えないと結論づけている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Umebayashi R, Uchida HA, Kakio Y, Subramanian V, Daugherty A, Wada J	4. 巻 38
2. 論文標題 Cilostazol Attenuates AngII-induced Abdominal Aortic Aneurysms But Not Atherosclerosis in ApoE Deficient Mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology	6. 最初と最後の頁 892-902
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309707.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Uchida HA, Okuyama M, Hada Y, Kakio Y, Otaka N, Umebayashi R, Tanabe K, Fujii Y, Kasahara S, Subramanian V, Daugherty A, Sato Y, Wada J.	4. 巻 1
2. 論文標題 Exogenous Vasohibin-2 Exacerbates Angiotensin II-induced Ascending Aortic Dilatation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circulation Reports	6. 最初と最後の頁 155-161
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1253/circrep.CR-19-0008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Umebayashi R, Uchida HA, Wada J.	4. 巻 73
2. 論文標題 The Aging Population and Research into Treatments for Abdominal Aortic Aneurysms	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Medica Okayama.	6. 最初と最後の頁 926-932
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.18926/AMO/57710	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Nozomu Otaka, Haruhito A. Uchida, Michihiro Okuyama, Yuki Kakio, Yoshiko Hada, Hidemi Takeuchi, Ryoko Umebayashi, Katsuyuki Tanabe, Yasufumi Sato, Jun Wada
2. 発表標題 Exogenous Vasohibin-2 Does Not Influence Angiotensin II-induced Abdominal Aortic Aneurysms Formation in Either Normolipidemic or Apolipoprotein E-Deficient Mice.
3. 学会等名 Vascular Discovery: From Genes to Medicine Scientific Sessions 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Michihiro Okuyama, Haruhito A. Uchida, Ryoko Umebayashi, Yuki Kakio, Hidemi Takeuchi, Katsuyuki Tanabe, Yasufumi Sato, Jun Wada.
2. 発表標題 Overexpression of Vasohibin-2 Exacerbates Development of Angiotensin II-induced Thoracic Aortic Aneurysms Independent of VEGF
3. 学会等名 Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 奥山倫弘、内田治仁、垣尾勇樹、梅林亮子、田邊克幸、藤井泰宏、大澤 晋、佐藤靖史、和田 淳
2. 発表標題 Vasohibin-2は大動脈瘤モデルマウスにおいてVEGFとは独立して胸部大動脈瘤を増悪させる
3. 学会等名 第58回日本脈管学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nozomu Otaka, Haruhito A. Uchida, Michihiro Okuyama, Yuki Kakio, Yoshiko Hada, Hidemi Takeuchi, Yasuhiro Onishi, Ryoko Umebayashi, Katsuyuki Tanabe, Yasufumi Sato, Jun Wada
2. 発表標題 Exogenous Vasohibin-2 Influences AngII-induced ascending Aortic Aneurysms But Not Influence Abdominal Aortic Aneurysms Formation in both C57BL6 and Apolipoprotein E-Deficient Mice.
3. 学会等名 Vascular Discovery: From Genes to Medicine 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内田治仁、秦昌紫子、杉山 育、和田 淳
2. 発表標題 腹部大動脈瘤の発症・進展におけるICAM-1の関与
3. 学会等名 第23回日本心血管内分泌代謝学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----