

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10760

研究課題名(和文) 腹部大動脈瘤の成因究明—動脈瘤壁の瘤化と老化制御遺伝子BubR1の発現との関連—

研究課題名(英文) The impact of BubR1 as a prognostic factor in the aneurysmal formation

研究代表者

古山 正 (FURUYAMA, Tadashi)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：00419590

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：動脈硬化性モデルであるBubR1低発現マウスに、脂質異常症モデルであるApoE欠損マウスをかけあわせて、BubR1低発現ApoE欠損マウスを作成した。作成したマウスの背部の皮下にinfusion pumpを埋め込み、高濃度AngIIを4週間投与し、腹部大動脈瘤を形成させた。4週間後に大動脈を採取した。BubR1発現が低下することで、Ang II由来の動脈瘤形成は抑制され、全生存率が高まった。病理学的検討では、BubR1低発現・ApoE欠損群で、elastinの破壊が軽度であった。BubR1の発現低下により、elastinの破壊が抑制され、動脈瘤形成に影響を及ぼしたと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動脈硬化性疾患の増悪因子は、喫煙、加齢、高血圧、脂質異常症、糖尿病などがあげられる。動脈硬化性疾患の一つである動脈瘤に関しては、有効な薬物療法はなく、手術療法以外に治療のオプションがないのが現状である。そのため、大動脈瘤形成のメカニズムの解明、およびその制御を行うための新たな分子機序の解明が急務である。この研究により動脈瘤形成に細胞周期遺伝子BubR1が関与している可能性がある事、BubR1の作用部位はelastinの破壊抑制である事が示され、BubR1が新たな腹部大動脈瘤治療のtargetとなり得ると考えられた。

研究成果の概要(英文)：BubR1 insufficiency impairs formation of angiotensin II induced abdominal aortic aneurysm in ApoE^{-/-} mice. Immunohistochemistry revealed that the fracture of elastin at the aortic wall induced by Ang II stimulation was repressed in BubR1^{L/L}/ApoE^{-/-} mice.

研究分野：血管外科

キーワード：腹部大動脈瘤 細胞周期遺伝子BubR1 アンギオテンシンII

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢者人口の増加に伴い、加齢と密接な関連を有する動脈硬化性疾患の罹患率は増加の一途にある。我が国の死因の第一位は悪性新生物であるが、第二位、第三位は心疾患、脳血管疾患であり、動脈硬化性疾患などの血管疾患の制御は生命予後の観点から重要な課題である。血管疾患の主な病態としては、下肢の動脈閉塞症と大動脈瘤があげられる。これらの増悪因子は、喫煙、加齢、高血圧、脂質異常症、糖尿病などがあげられる。特に動脈瘤に関しては、有効な薬物療法はなく、手術療法以外に治療のオプションがないのが現状である。そのため、大動脈瘤形成のメカニズムの解明、およびその制御を行うための新たな分子機序の解明が急務である。

2. 研究の目的

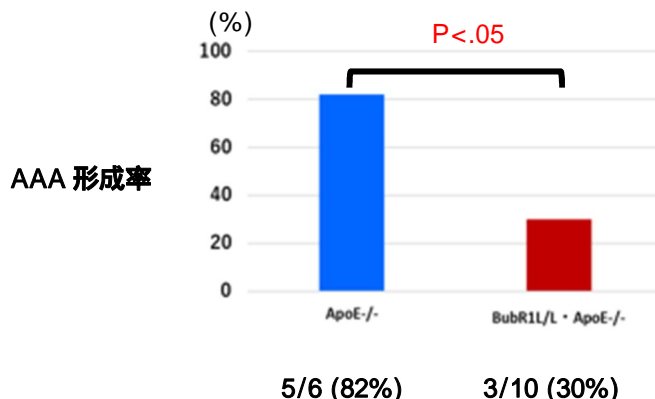
我々はこれまでに、細胞周期遺伝子 **BubR1** が動脈硬化性変化と深く関与していること、この **BubR1** の発現はマウスのみならず、ヒトにおいても動脈硬化および加齢に大きく関与していることを報告してきた。(Matsumoto T et al *Stroke* 2007)(Guntani A et al *J Surg Res* 2011)(Kyuragi R *ATVB* 2015)。今回、我々はマウス動脈瘤モデルを作成し、動脈瘤形成に **BubR1** がどのような影響を与えるかを検討し、動脈壁の老化についてのメカニズムを解明、動脈硬化性疾患の制御を図る事を目的とする。

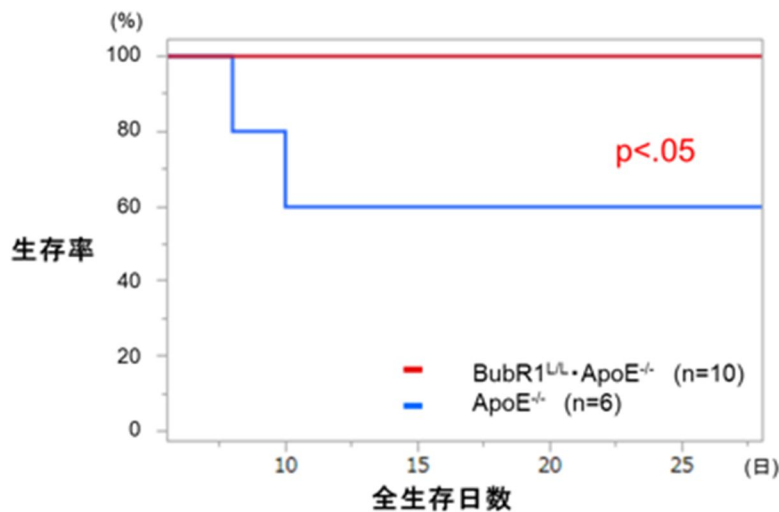
3. 研究の方法

動脈硬化性モデルである **BubR1** 低発現マウスに、脂質異常症モデルである **ApoE** 欠損マウスをかけあわせて、動脈硬化疾患への影響をより反映する **BubR1** 低発現 **ApoE** 欠損マウスをまず作成した。作成した **BubR1** 低発現 **ApoE** 欠損マウスの背中の皮下に **infusion pump** を埋め込み、**pump** から高濃度 **AngII** を 4 週間投与し、腹部大動脈瘤を形成させ、腹部大動脈瘤モデルとした。このモデルを用いて、腹部大動脈瘤形成の頻度、形成部位、破裂率などを検討した。

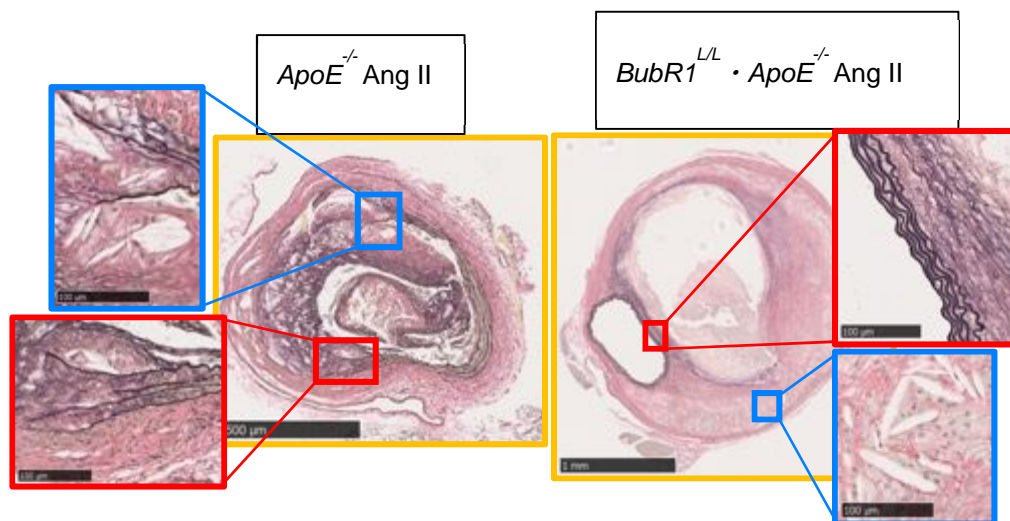
4. 研究成果

4 週間後に大動脈を採取し、全生存率、動脈瘤形成率の検証と、大動脈切片の病理学的評価を行った。**ApoE** 欠損群は 2/6 頭 (33%) が動脈瘤破裂により死亡したが、**BubR1** 低発現・**ApoE** 欠損群では 10 頭全て生存していた。また、**ApoE** 欠損群は 5/6 (82%) が動脈瘤を形成したが、**BubR1** 低発現・**ApoE** 欠損群では 3/10 (30%) のみ動脈瘤を形成した。動脈瘤はいずれも腎動脈分岐直上の腹部大動脈に形成された。**BubR1** 発現が低下することで、**Ang II** 由来の動脈瘤形成は抑制され、全生存率が高まった。





病理学的検討では、動脈瘤の面積は **BubR1** 低発現・**ApoE** 欠損群で有意に広がった。また、**ApoE** 欠損群では、内膜での粥腫形成が主体であったが、**BubR1** 低発現・**ApoE** 欠損群では中外膜主体の粥腫形成を認め、**elastin** の破壊が軽度であった。これは **BubR1** の発現低下により、**elastin** の破壊が抑制され、動脈瘤形成に影響を及ぼしたと考えられた。動脈瘤形成のメカニズムの一つとして **elastin** の破壊が考えられた。



RAW264.7 細胞に **siRNA BubR1** を用いた **RNAi** を行った。**Reverse transcription** 法にて **siRNA** 導入後 **72** 時間後に回収を行ったところ **Control siRNA** の約 **25%**まで **BubR1** 低下を認めた。**RAW264.7** 細胞を **24** 時間の **FBS** 飢餓を行った後に、**Ang II** および **TNF α** にて刺激を行い、下流シグナルを検討した。**p38 MAPK** は **TNF α** 刺激により、経時的にリン酸化が増加した。一方で **Ang II** 刺激では、**15** 分後をピークとしてリン酸化が増加し、**60** 分後には非刺激状態まで戻った。**p65 (NF- κ B)** は刺激後リン酸化のピークを確認した。下流シグナルとしては、**MAPK** として **ERK1/2** および **p38** をまた転写因子活性として **p65 (NF- κ B)** が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Matsubara Y, Matsumoto T, Yoshiya K, Yoshida A, Ikeda S, Furuyama T, Nakatsu Y, Tsuzuki T, Nomura M, Maehara Y.	4. 巻 Mar;51(3)
2. 論文標題 Budding Uninhibited by Benzimidazole-1 Insufficiency Prevents Acute Renal Failure in Severe Sepsis by Maintaining Anti-Coagulant Functions of Vascular Endothelial Cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Shock	6. 最初と最後の頁 364-371
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/SHK.0000000000001147.	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 -
1. 著者名 Furuyama T, Onohara T, Yamashita S, Yoshiga R, Yoshiya K, Inoue K, Morisaki K, Kyuragi R, Matsumoto T, Maehara Y.	4. 巻 Dec;26(6)
2. 論文標題 Prognostic factors of ulcer healing and amputation-free survival in patients with critical limb ischemia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Vascular.	6. 最初と最後の頁 626-633
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1708538118786864.	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 -
1. 著者名 Matsubara Y, Furuyama T, Nakayama K, Yoshiya K, Inoue K, Morisaki K, Kume M, Maehara Y.	4. 巻 Dec;48(12)
2. 論文標題 High intramuscular adipose tissue content as a precondition of sarcopenia in patients with aortic aneurysm.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Surg Today.	6. 最初と最後の頁 1052-1059
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00595-018-1697-9	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 -
1. 著者名 Kawakubo E, Matsumoto T, Yoshiya K, Yamashita S, Jogo T, Saeki H, Oki E, Furuyama T, Oda Y, Maehara Y.	4. 巻 Nov;38(11)
2. 論文標題 BUBR1 Insufficiency Is Correlated with eNOS Reduction Experimentally In Vitro and In Vivo, and in Gastric Cancer Tissue.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 6099-6106
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.12960.	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 -

1. 著者名 Furuyama T, Onohara T, Yoshiga R, Yoshiya K, Matsubara Y, Inoue K, Matsuda D, Morisaki K, Matsumoto T, Maehara Y.	4. 巻 Feb;27(1)
2. 論文標題 Functional prognosis of critical limb ischemia and efficacy of restoration of direct flow below the ankle.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Vascular.	6. 最初と最後の頁 38-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1708538118798886.	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 -

1. 著者名 Morisaki K, Furuyama T, Matsubara Y, Inoue K, Kurose S, Yoshino S, Nakayama K, Yamashita S, Yoshiya K, Yoshiga R, Maehara Y	4. 巻 Aug;27(4)
2. 論文標題 External validation of CLI Frailty Index and assessment of predictive value of modified CLI Frailty Index for patients with critical limb ischemia undergoing infrainguinal revascularization.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Vascular.	6. 最初と最後の頁 405-410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1708538119836005.	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 -

1. 著者名 Aoyagi Y, Furuyama T, Inoue K, Matsuda D, Matsubara Y, Okahara A, Ago T, Nakashima Y, Mori M, Matsumoto T.	4. 巻 Dec 3;8(23)
2. 論文標題 Attenuation of Angiotensin II-Induced Hypertension in BubR1 Low-Expression Mice Via Repression of Angiotensin II Receptor 1 Overexpression.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Am Heart Assoc.	6. 最初と最後の頁 e011911.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.118.011911.	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 -

〔学会発表〕 計1件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 吉屋圭史、中山 謙、山下 勝、吉賀亮輔、井上健太郎、森崎 浩一、古山 正、前原喜彦
2. 発表標題 Angiotensin II誘発腹部大動脈瘤形成と 破裂の抑制の検証
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018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
研究 分担者	松本 拓也 (Matsumoto Takuya) (20374168)	国際医療福祉大学・医学部・主任教授 (32206)	
研究 分担者	松田 大介 (Matsuda Daisuke) (90780883)	九州大学・医学研究院・共同研究員 (17102)	