

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007-2008

課題番号：19590846

研究課題名 (和文) マクロファージ遊走阻止因子の大動脈瘤形成に関わる役割

研究課題名 (英文) Role of macrophage migration inhibitory factor on the progression of the aortic aneurysm

研究代表者

福澤 純 (FUKUZAWA JUN)

旭川医科大学・医学部・特任准教授

研究者番号：40333695

研究成果の概要：

腹部大動脈瘤形成モデルの確立：野生型マウスに対して大動脈瘤作製処置を行い、大動脈径の拡大を観察した。瘤形成部位における MIF 発現および血中 MIF 濃度を確認した。MIF の発現細胞をメッセージレベルおよび蛋白レベルで検討した。腹部大動脈瘤作製法：3 種類の方法を検討した (塩化カルシウム刺激法、アンジオテンシン II 注入法、ApoE ノックアウトマウス法)。塩化カルシウム刺激法が濃度依存性などの関係で本実験系に適していることがわかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：マクロファージ、弾性血管、ELISA

1. 研究開始当初の背景

大動脈瘤の罹患率の増加と悪い予後

・動脈硬化性疾患が死亡率の上位を占めるに至った。血管カテーテル手技などの非外科

的治療が豊富な虚血性心疾患に較べ、解離時の治療手技が外科的処置中心である大動脈瘤は予後が悪い。

大動脈瘤の予後改善のために

(1) 急性期の緊急手術を回避すること、瘤の解離および破裂前に待機的手術を行なうこと、または

(2) 発症の予防を強化することが必要である。

(1) には発症予知、早期発見法の確立、(2) には大動脈瘤の進展および解離の機序の解明が求められる。

大動脈瘤発生・拡大機序としての酸化ストレス・炎症機転と各リガンドの役割

・大動脈瘤発症機序として酸化ストレスや炎症機転、およびmatrix metalloproteinase (MMP) 活性化やコラーゲン合成酵素などのマトリックス合成関連因子抑制それらの修飾機転がかかわっていることが報告されている。(Longo GM, et al. J Clin Invest 2002, Yoshimura K, et al. Nat Med. 2005)

・大動脈瘤径の拡大と血中マクロファージ遊走阻止因子 (MIF) 値とが正の相関を持つという臨床研究内容が報告された (Pan JH, et al. J Vasc Surg 2003)。(MIF: macrophage migration inhibitory factor)

・炎症、中膜破綻 (萎縮)、血管平滑筋のアポトーシス、弾性線維の破壊、vasa vasorum 形成が瘤組織における組織学的所見として知られている。

循環器系における MIF の役割を示した報告

・MIF は炎症性細胞の標的部集積作用を有する免疫制御サイトカインで、細胞増殖作用や動脈硬化などの心血管系の病態形成においても重要な役割をはたしていることが報告されてきている。(Lin SG et al. Circ Res 2000; Burger- Kentischer A, et al. Circulation 2002; Schober A. Circulation 2004)

・平成 16-17 年度の科学研究費基盤研究 (C) で、MIF が虚血肢の血管新生を促進させ、その機序にmatrix metalloproteinase 9 (MMP9)

およびvascular endothelial growth factor (VEGF) 発現亢進を介していることを MIF 過剰発現マウスを用いて示した。(Fukuzawa J, et al. Circulation 2004)

・申請者は酸化ストレスが MIF の発現(分泌)を促進することを示した。(Fukuzawa J, et al. J Biol Chem 2002)

2. 研究の目的

Overall—炎症性大動脈瘤形成および進展に MIF が重要な役割を果たしていることを示す。(循環器系疾患における MIF の新規で重要な位置付けを行なう。)

本研究により解明をめざす事項

—具体的な目的— フォーカスを以下の項目に絞り検討する。

A. MIF による大動脈瘤形成・進展

A.1 各種大動脈瘤モデルにおける瘤組織における MIF 発現および血中 MIF 濃度の変化

A.2 MIF が最も関与するモデル (瘤形成機序) において MIF の大動脈瘤形成・進展速度に及ぼす影響

B. MIF によって誘発される大動脈瘤形成・進展促進および抑制因子

B.1 上記における MIF の大動脈瘤形成・進展因子 (MMP9 および VEGF を含む) 発現に与える影響

B.2 同様に血管障害部位の修復因子発現(マトリックス合成関連因子)に対する MIF の影響

B.3 MIF により誘発される MMP9 および VEGF の大動脈瘤形成・促進への関与

C. MIF と MIF によって誘発される大動脈瘤形成・進展促進および抑制因子の大動脈瘤形成・進展促進機序

C.1 マクロファージ等の集積、中膜破綻、血管平滑筋アポトーシス、弾性線維の破壊、

vasa vasorum 形成にあたる MIF、MMP9、VEGF およびマトリックス合成関連因子の影響

3. 研究の方法

腹部大動脈瘤形成モデルの確立

・野生型マウスに対して大動脈瘤作製処置を行い、大動脈径の拡大を観察する。

・瘤形成部位における MIF 発現および血中 MIF 濃度を確認する。

MIF の発現細胞をメッセージレベルおよび蛋白レベルで検討する。(a. 瘤形成部位の平滑筋や線維芽細胞なのか、マクロファージを中心とした浸潤細胞なのか、b. メッセージレベルの調節なのか否か)

4. 研究成果

A. 1 炎症機転、血栓、動脈硬化が形成機序である 3 種類の大動脈瘤モデル (野生型および MIF 以外の遺伝子改変マウス) において、炎症機転で形成される大動脈瘤部位に MIF 発現が増加する。さらに、同モデルにおいて血中 MIF 濃度が上昇する。

A. 2 このモデルを MIF 過剰発現 (トランスジェニック) マウスに適用した際に瘤拡大進展速度が速くなり、一方、野生型マウスモデルに中和活性を有する抗 MIF 抗体を投与すると瘤形成進展が抑制される。

B. 1 MIF 過剰発現マウスでは病変部における MMP9 の発現、マクロファージの集積、および VEGF などの瘤形成・進展因子が野生型マウスに較べて増加している。一方、抗 MIF 抗体を投与したマウスでは上記の因子の増加が抑制されている。

B. 2 MIF 過剰発現マウスでは病変部における各種コラーゲン合成酵素などの瘤修復因子が野生型マウスに較べて減少している。一方、抗 MIF 抗体を投与したマウスでは上記の因子の抑制が消失する。

B. 3a MMP (MMP9 を含む) 阻害薬を投与したマウス、MMP9 ジーンターゲティング (ノックアウト) マウスでは上記の大動脈瘤モデルにおいて MIF の発現は増加するが瘤形成・進展が抑制されている。また、Mmp9^{-/-} Mif^{+/+} マウス (MMP9 ノックアウトマウスと MIF トランスジェニックマウスのかけあわせて作製) では瘤作製処置を行ってもその形成・進展が抑制される。

B. 3b VEGF 中和抗体を投与したマウスにおいて大動脈瘤モデルを作製した際には MIF は発現増加するが瘤形成・進展は抑制される。

B. 3c Mmp9^{-/-} Mif^{+/+} マウスに VEGF 中和抗体を投与した大動脈瘤モデルマウスでは MIF は発現増加するが瘤形成・進展は抑制されその度合いは上記 B. 3a および B. 3b よりも強い。

C. 1a MIF 過剰発現マウスに瘤作製操作を行なうとマクロファージ等の集積、中膜破綻、血管平滑筋のアポトーシス、弾性線維の破壊、vasa vasorum 形成が促進される。

C. 1b 以下のマウスに瘤作製処置を行なうと上記 C. 1a の評価項目が抑制される。

(α) MMP (MMP9 を含む) 阻害薬を投与したマウス、MMP9 ジーンターゲティング (ノックアウト) マウス

(β) Mmp9^{-/-} Mif^{+/+} マウス

(γ) VEGF 中和抗体を投与したマウス

(δ) Mmp9^{-/-} Mif^{+/+} マウスに VEGF 中和抗体を投与したマウス

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 2 件)

1. Motomura W, Yoshizaki T, Ohtani K,

Okumura T, Fukuda M, **Fukuzawa J**, Mori K, Jang S, Nomura N, Yoshida I, Suzuki Y, Kohgo Y, Wakamiya N. Immunolocalization of a novel collectin CL-K1 in murine tissues. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 有 56 : 2008 : 243-52

2. Jang S, Ohtani K, Fukuoh A, Yoshizaki T, Fukuda M, Motomura W, Mori K, **Fukuzawa J**, Kitamoto N, Yoshida I, Suzuki Y, Wakamiya N: Scavenger receptor CL-P1 predominantly mediates zymosan phagocytosis by human vascular endothelial cells. Journal of Biological Chemistry., 有 284:2008: 3956-3965

〔学会発表〕（計 1 件）

Fukuzawa J., Yao N., Hasebe N., Itabe H., Jang S., Ohtani K., Wakamiya N. Circulating oxidized LDL levels and blood pressure in patients with hemodialysis. The 22nd Scientific meeting of the International Society of Hypertension The 22nd Scientific meeting of the International Society of Hypertension, 16 June 2008 Berline, Germany

〔図書〕（計 1 件）

福澤純、長谷部直幸 羊土社 高血圧性臓器障害の評価、「高血圧診療ハンドブック エビデンスに基づく、食事・運動・薬物療法の進め方」. 浦信行編集 2008:263

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福澤 純 (FUKUZAWA JUN)

旭川医科大学・医学部・特任准教授

研究者番号 : 40333695

(2) 研究分担者

該当無し

(3) 連携研究者

該当無し