

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08446

研究課題名（和文）放射線誘発性動脈硬化促進の特異マーカーを標的とした治療法開発

研究課題名（英文）Identifying the specific marker and development of a novel therapy for radiation-induced atherosclerosis

研究代表者

吉田 和道（Yoshida, Kazumichi）

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：90598921

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、放射線照射による血管障害の予防治療法を確立することを目指し、放射線照射後の動脈硬化促進機序を明らかにすることである。我々が確立した動物モデルを利用して、以下の3点を確認した。1）放射線照射により動脈硬化が促進される。2）内皮細胞や中膜平滑筋細胞にDNAダメージが生じる。3）内皮細胞や中膜平滑筋細胞の一部で各種細胞老化マーカー陽性である。これらの結果から Senescence-associated secretory phenotype (SASP) と呼ばれるDNA損傷反応を介した老化細胞による炎症性反応の関与の可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線照射が動脈硬化の危険因子であることは知られている。また、癌治療後の生存者の半数近くが何らかの放射線治療を受けているため、放射線治療の副作用としての血管障害は臨床的に重要な問題である。近年、癌に対する集学的治療の進歩により、長期生存者が増加しているため、今後、放射線誘発性の動脈硬化の患者の急増が予想される。さらに、わが国の急速な高齢者人口の増加等の背景を考慮すると、放射線誘発性の動脈硬化促進機序を明らかにし、それに基づく適切な予防および治療法の確立は極めて重要な課題と言える。治療対象は、放射線照射を併用する全ての疾患が適応となり得るため、その臨床的意義も大きい。

研究成果の概要（英文）：The aim of this research is to elucidate the mechanism of progression of atherosclerosis after irradiation for the future establishment of prevention method for the radiation-induced vasculopathy. Three points as follows were confirmed by the basic research using the mouse model of radiation-induced carotid atherosclerosis we established. 1) Irradiation promotes atherosclerotic change of the carotid artery. 2) DNA damage persists in the irradiated endothelial cell and smooth muscle cells in the media. 3) Parts of the irradiated endothelial cells and smooth muscle cells are positive for the marker of cellular senescence. The results of our study clearly showed the possibility of atherosclerosis progression through Senescence-associated secretory phenotype by aging cells with DNA damage.

研究分野：動脈硬化 脳血管障害 頸動脈狭窄

キーワード：動脈硬化 虚血性血管障害 放射線照射 細胞老化 慢性炎症

### 1. 研究開始当初の背景

放射線照射が動脈硬化の危険因子であることは以前より知られており、癌治療後の生存者の半数近くが何らかの放射線治療を受けているため、放射線治療の副作用としての虚血性心疾患や脳梗塞は臨床的に非常に重要な問題である。近年、各種の癌に対する集学的治療の進歩により、長期生存者が増加しているため、今後、放射線誘発性の動脈硬化の臨床的重要性は増すものと予想される。更に、既存の動脈硬化巣に放射線を照射すると急速に進行する危険性があることが報告されていることや、高齢は癌および動脈硬化の両者に対する高危険因子であること、わが国の急速な高齢者人口の増加等の背景を考慮すると、放射線誘発性の動脈硬化促進機序を明らかにし、それに基づく適切な予防および治療法の確立は極めて重要かつ喫緊の課題と言える。

放射線誘発性動脈硬化の動物モデルに関するこれまでの研究では、主に ApoE ノックアウトマウスに単照射または分割照射を行うと動脈硬化が促進されることが報告されているが、プラーク体積の増加を伴う進行性病変のモデルや、既存の動脈硬化巣に対する放射線照射の効果を評価できる動物モデルの報告は存在しない。

### 2. 研究の目的

本研究の第一の目的は、動脈硬化を誘発した後に放射線を照射する動物モデルを確立し、放射線の動脈硬化促進機序を明らかにすることである。更に、その機序に基づく治療法を開発することを目指す。

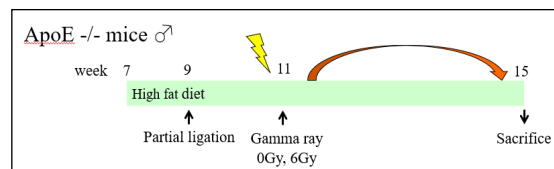
### 3. 研究の方法

#### 1) 放射線照射後の動脈硬化促進動物モデル作成

生後 8 週から高脂肪食を与え始め、10 週後に内・外頸動脈結紮の処置を施すことにより、経時的に総頸動脈にプラークが形成され、しかも、組織学的にも脂質成分に富み、形態的にも陽性リモデリングを呈するなど、不安定プラークの特徴を備えていることを確認した。この方法により、血管内皮細胞に直接物理的な障害を加えない自然発症に近い形での動脈硬化性プラークを安定的に作成できる。

本研究は、既に動脈硬化の初期病変を有すると想定される中高年の動脈に対する放射線照射の影響を評価するための動物モデルを作成するため、雄の ApoE ノックアウトマウスに生後 7 週から高脂肪食を与え、9 週目に結紮処置を施し、11 週目(結紮後 2 週目)に 6Gy のガンマ線を照射するモデルをまずは計画している。(図 1) 実際には種々の条件検討を行い、「動脈硬化初期病変に対する放射線照射の動物モデル」として最適の照射方法(単回・分割)・照射量・照射時期を設定した。

図 1



#### 2) 放射線照射群・非照射群での動脈硬化性プラークの組織学的相違の検証

放射線照射後の動脈硬化促進モデルが確立した後に、それを利用して放射線照射の有無による動脈硬化進行の違いを組織学的に検証するため、内膜面積、中膜面積、プラーク面積、等の定量比較を行った。また、マクロファージの浸潤や MMP2, 9, 13 等の発現を比較し、放射線照射の影響を評価した。

#### 3) 放射線照射によるプラーク構成細胞の DNA 障害遷延の免疫組織学的定量化

放射線照射後の動脈硬化進展の特異的変化を検証するため、血管内皮細胞・中膜平滑筋細胞・マクロファージなど各プラーク構成細胞の DNA 障害の遷延を定量評価した。

#### 4) 老化マーカーを用いた血管老化の評価

p21, p16ink4a 等の各種老化マーカーを用いて血管老化の程度を評価した。

### 4. 研究成果

新たに我々が確立した動物モデルを利用して、放射線照射によって既存の動脈硬化が著しく促進されることを確認した。(図 2)

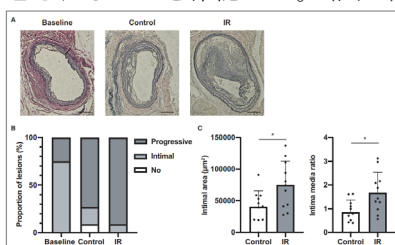


図 2

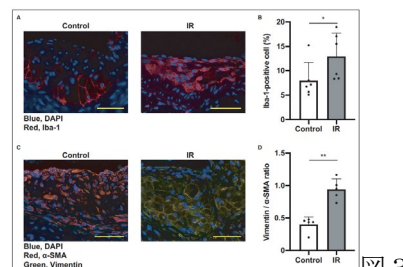


図 3

免疫組織化学的検討により、放射線照射を行った頸動脈では、マクロファージの集積と平滑筋細胞の脱分化が亢進していることを確認した。(図3)

更に、各種DNA損傷マーカーによる検証により放射線照射を行った血管壁の内皮や中膜においてDNAダメージが遷延していること(図4)および、各種老化細胞のマーカーが陽性であることを確認した。(図5)

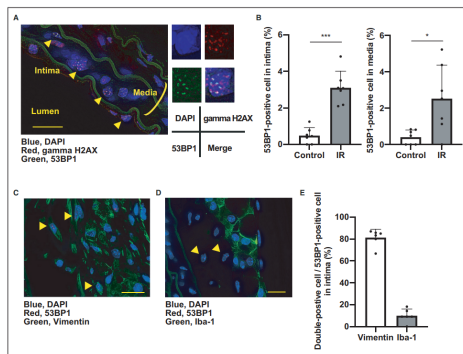


図4

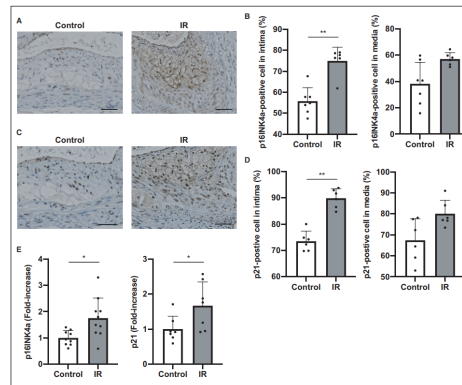


図5

Senescence-associated secretory phenotype (SASP) と呼ばれる、DNA損傷反応を介した老化細胞による炎症性反応に着目し、放射線照射後の頸動脈プラーク形成にSASPが関与する可能性を示した。(図6)

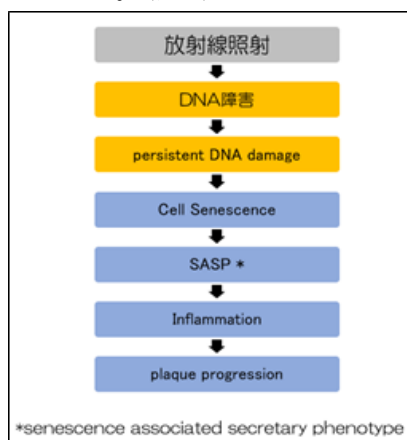


図6

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yu Yamamoto , Manabu Minami, Kazumichi Yoshida , Manabu Nagata , Takeshi Miyata , Tao Yang , Naoki Takayama , Keita Suzuki , Masakazu Okawa, Kiyofumi Yamada, Susumu Miyamoto	4. 巻 20
2. 論文標題 Irradiation Accelerates Plaque Formation and Cellular Senescence in Flow-Altered Carotid Arteries of Apolipoprotein E Knock-Out Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Am Heart Assoc.	6. 最初と最後の頁 e020712
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/JAHA.120.020712	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉田和道・鈴木啓太・高山直樹・山本 優・鈴木 芽・山田清文・大川将和・宮本 享
2. 発表標題 MRIを用いた頸動脈プラーク内出血診断による病態解明と治療戦略
3. 学会等名 第44回CI学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田和道・高山直樹・伏見育崇・舟木健史・大川将和・宮本 享
2. 発表標題 脳血管障害におけるvessel wall imagingの役割：頸部から頭蓋内病変まで
3. 学会等名 第39回 The Mt. Fuji workshop on CVD
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田和道、鈴木啓太、高山直樹、鈴木 芽、大川将和、石井 暁、宮本 享
2. 発表標題 Vessel wall imagingに基づく頸部内頸動脈硬化症の治療
3. 学会等名 第80回 日本脳神経外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本優、吉田和道、南学、鈴木啓太、高山 直樹、鈴木芽、大川将和、山田清文、宮本享
2. 発表標題 放射線照射はマウス頸動脈プラークの細胞老化を促進させる
3. 学会等名 第80回 日本脳神経外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田和道・鈴木啓太・高山直樹・山本 優・鈴木 芽・山田清文・大川将和・宮本 享
2. 発表標題 Vessel wall imagingに基づく頸動脈動脈硬化症の治療
3. 学会等名 第50回日本脳卒中の外科学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田和道・鈴木啓太・高山直樹・山本 優・鈴木 芽・山田清文・大川将和・宮本 享
2. 発表標題 MRIを用いた頸動脈プラーク内出血診断による病態解明と治療戦略
3. 学会等名 第44回CI学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本 優・吉田和道・南 学・鈴木啓太・高山直樹・大川将和・山田清文・宮本 享
2. 発表標題 放射線誘発性頸動脈狭窄症のモデルマウス作成
3. 学会等名 日本脳神経外科学会 第79回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 優・吉田和道・高山直樹・鈴木啓太・鈴木 芽・大川将和・山田清文・宮本 享
2. 発表標題 マウスを用いた放射線誘発性頸動脈狭窄症の基礎研究
3. 学会等名 第50回日本脳卒中の外科学会学術集会
4. 発表年 2021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	南 学  (Minami Manabu)  (90511907)	京都大学・医学研究科・准教授    (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------