

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月23日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791252

研究課題名（和文） 腹部大動脈瘤における接着分子 ICAM-1 の分子機構の解明

研究課題名（英文） Molecular mechanism of intercellular adhesion molecule-1 in the development of abdominal aortic aneurysms

## 研究代表者

内田 治仁（UCHIDA HARUHITO）

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：00550857

## 研究成果の概要（和文）：

高脂血症モデルマウスのアポ E ノックアウトマウス（SKO）および、アポ E と ICAM-1 をダブルノックアウトされたマウス（DKO）に対して、アンジオテンシン II を持続投与し腹部大動脈瘤を作成したところ、DKO マウスでは SKO マウスに比べて腹部大動脈瘤形成が有意に抑制された。骨髄移植を用いた検討では、レシピエントが DKO であると腹部大動脈瘤形成が抑制された。以上より組織における ICAM-1 が腹部大動脈瘤形成に関与していることが示唆された。

## 研究成果の概要（英文）：

Angiotensin II was infused into apoE deficient mice (SKO) and ICAM-1xapoE double deficient mice (DKO) to develop abdominal aortic aneurysm (AAA). ICAM-1 deficiency in whole body attenuated the development of AAA. Bone marrow transplantation revealed that ICAM-1 deficiency in the recipient mice reduced the development of AAA. This result suggests that ICAM-1 may play an important role in the development of AAA formation in this model.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：血管外科学、大動脈瘤

## 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19年度の日本人の死因別順位において第14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、最近ではレニン・アンジオテンシン系抑制薬が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。

ヒトの大動脈瘤病変部の組織学的な所見としては、動脈硬化の合併が大部分に認められるほか、大動脈の中膜の断裂、高度の炎症細胞浸潤、周囲の血栓形成などが認められる。一方、高脂血症マウスにAngIIを持続投与すると腹部大動脈瘤を形成する。このモデル (AngIIモデル) においては、ヒトの大動脈瘤病変部の組織と非常によく似た組織像を示すということが知られており、さらには、動脈硬化を同時に発症しかつ大動脈瘤の破裂がみられるということから、ヒト疾患との共通性が非常に高いと考えられている。このモデルでは、初期の段階でマクロファージの血管壁への集積がみられ、その後血管中膜の断裂が認められ、腹部大動脈瘤形成に至ることが明らかになっている。

ICAM-1に関しては、このモデルの腹部大動脈瘤病変部において発現が亢進することが報告されているが、その発現制御のメカニズムについては未だまったく解明されていない。ICAM-1をノックアウトしたマウスにおいては、マクロファージを主体とした慢性炎症が惹起する動脈硬化症増悪が抑制し、また糖尿病性腎症の進展を抑制することが報告されており、これらのことから、ICAM-1ノックアウトマウスではマクロファージなどの炎症細胞の血管壁への集積を抑制することにより、腹部大動脈瘤における発症・進展抑制効果を

示すのではないかと考えるに至った。

## 2. 研究の目的

本研究においては① ICAM-1ノックアウトマウスの腹部大動脈瘤に対する影響の検討、② 骨髄由来細胞及び血管壁構成細胞由来のICAM-1の腹部大動脈瘤に対する影響の検討、③ 骨髄由来細胞や血管壁構成細胞におけるICAM-1がもたらす細胞浸潤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、を行い、腹部大動脈瘤におけるICAM-1の重要性和分子機構を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

まず高脂血症モデルマウスである apoE ノックアウトマウス (SKO) と ICAM-1 ノックアウトマウスとを交配し、ICAM-1xapoE ダブルノックアウトマウス (DKO) を作成した。

### ①SKO および DKO に対して、AngII

(1,000ng/kg/min) を 4 週間持続投与し、腹部大動脈瘤発症・進展への影響を検討した。腹部大動脈瘤の形態学的な検討、および組織学的な検討に加えて、炎症性サイトカインや酸化ストレスマーカーの mRNA 定量やタンパク定量、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の定量などを行った。

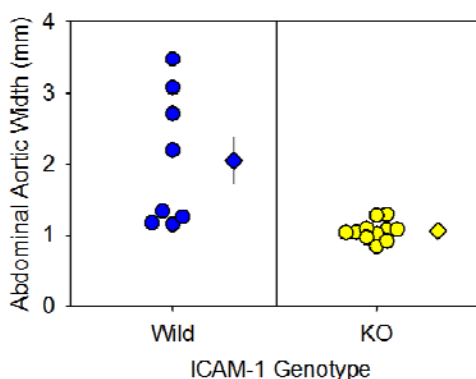
②SKO および DKO に対して、それぞれをドナーおよびレシピエントとして骨髄移植を行い、4 種類のキメラマウスを作成した。骨髄移植後 5 週間した後、これらのマウスに対して、AngII (1,000ng/kg/min) を 4 週間持続投与し、腹部大動脈瘤発症・進展への影響を検討した。腹部大動脈瘤の形態学的な検討、および組織学的な検討などを行った。

③ ②の結果を受け、血管壁構成細胞のうち、ICAM-1 の発現が豊富な血管内皮細胞に着目

し、SKO および DKO マウスの大動脈から血管内皮細胞をそれぞれ初代継代培養し、AngII による NF-kB シグナルへの影響を検討した。

#### 4. 研究成果

①腹部大動脈瘤の発症は、DKO 群では有意に抑制された。(Fig)



さらに、DKO 群では SKO 群と比べて

- 1) MMP-2 の活性、
  - 2) マクロファージの局所への浸潤
  - 3) MCP-1, IL-6 などの炎症性サイトカインの遺伝子発現
  - 4) NF-kB コンポーネントの p65 の発現
- などが抑制されていた。

以上より、ICAM-1 を欠損すると腹部大動脈瘤の発症・進展が抑制されることが示された。

②次に骨髄移植による実験では、骨髄由来細胞の genotype にかかわらず、レシピエントの genotype が DKO である群では腹部大動脈瘤の発症が抑制される一方、レシピエントの genotype が SKO である群では腹部大動脈瘤の発症は抑制されなかった。この実験から、血管壁細胞由来の ICAM-1 の発現が腹部大動脈瘤の発症・進展に関与していることが示唆された。

③現在、血管内皮細胞に AngII をふりかけ、NF-kB のルシフェラーゼアッセイおよび p65 のタンパク定量を行っている。ともに DKO の血管内皮細胞においては AngII によるシグナルの減弱が認められた。現在さらに検討を行っている。

#### 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 6 件)

① Uchida HA, Poduri A, Subramanian V, Cassis LA, Daugherty A, Urokinase-Type Plasminogen Activator Deficiency in Bone Marrow-Derived Cells Augments Rupture of Angiotensin II-Induced Abdominal Aortic Aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 Dec;31(12):2845-52.

② Uchida HA, Sugiyama H, Takiue K, Kikumoto Y, Inoue T, Makino H, Development of Angiotensin II-induced Abdominal Aortic Aneurysms Is Independent of Catalase in Mice. *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* 2011 Dec;58(6):633-638

③ Uchida HA, Kristo F, Rateri LD, Lu H, Carnigo R, Cassis LA, Daugherty A, Total lymphocyte deficiency attenuates AngII-induced atherosclerosis in males but not abdominal aortic aneurysms in apoE deficient mice. *Atherosclerosis.* 2010 Aug;211(2):399-403.

[学会発表] (計 15 件)

① 内田治仁、エダラボンは抗酸化作用および抗炎症作用を介して腹部大動脈瘤形成を抑制する、第 52 回日本脈管学会総会、2011 年 10 月 20 日～22 日、長良川国際会議場、岐阜市  
(JACC Award 優秀賞受賞)

② 内田治仁、腹部大動脈瘤形成におけるカタラーゼの果たす役割の検討、第 52 回日本脈管学会総会、2011 年 10 月 20 日～22 日、長良川国際会議場、岐阜市

③ Uchida HA, Edaravone Attenuates Angiotensin II-induced Abdominal Aortic Aneurysms in Apolipoprotein E Deficient Mice. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 2011, 2011/04/28 to 2010/04/30, Hilton Chicago, Chicago, USA

④ 内田治仁、アンジオテンシン II 負荷腹部大動脈瘤マウスモデルにおける uPA-uPAR カスケードが果たす役割の検討、第 51 回日本脈管学会総会、2010 年 10 月 14 日～16 日、旭川

⑤ Uchida HA, Chronic Infusion of Angiotensin II does not Sensitize Acatalasemic Mice to Development of Abdominal Aortic Aneurysms, Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 2010, 2010/04/08 to 2010/04/10, San Francisco, USA

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

内田 治仁 (UCHIDA HARUHITO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号 : 00550857

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者