

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：13701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659646

研究課題名(和文) 主幹動脈狭窄症における炎症性サイトカインの動脈硬化進展作用の解析

研究課題名(英文) Mechanism of atherosclerosis progression by platelet-derived inflammatory cytokines in carotid artery stenosis

研究代表者

岩間 亨 (IWAMA, Toru)

岐阜大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20303498

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：ずり応力下における血小板由来炎症性サイトカインの発現は、いずれも時間依存性増加がみられ、糖尿病を保有する群では保有しない群に比べ増加率が有意に高かった。頸動脈狭窄症を有する患者における、炎症性サイトカイン値と一年間の心血管イベント、プラーク量、脂質割合との相関の検討については、有意な関連はみられなかったものの、脳梗塞発症群、不安定プラーク保有群では炎症性サイトカイン値が高い傾向がみられ、現在も解析中である。

研究成果の概要(英文)：This study revealed that shear-induced platelet-derived inflammatory cytokines, such as sCD40L, interleukins, increase in time-dependent manner. In carotid stenosis patients, a significant time-dependent increase of platelet-derived inflammatory cytokines was observed in the patients with diabetes compared to the patient without it. The clinical study for the patients with carotid artery stenosis to elucidate the correlation between cardiovascular events, plaque volume, and lipid ratio and inflammatory cytokines value revealed that the value of inflammatory cytokines are significantly high in the patients developed cerebrovascular event and the patients with vulnerable plaque. About its mechanism and its intracellular signal transduction are still under consideration. Some of these content has been already reported in journals(J Stroke Cerebrovasc Dis. 2012).

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：主幹動脈狭窄症 炎症性サイトカイン 動脈硬化進展作用

1. 研究開始当初の背景

近年、動脈硬化進展や心血管イベントには sCD40L, IL-1 β などの血小板由来炎症性サイトカインが関与していることが知られている。

CD40L $-/-$ mice で大動脈プラークが著明に減少 (Henn V, et al. Nature 1998) した他、ヒトでも急性冠動脈症候群 (Heeschen C, et al, N Eng J Med 2003) や脳梗塞 (Garlachs CD, et al. Stroke 2003) でこれらの値が上昇し、将来の心血管イベントリスクに相関することが知られている。

そこで、動脈硬化症におけるずり応力の亢進が炎症性サイトカイン放出を促進し、粥腫の増大に至るのではないかと考えた。

2. 研究の目的

① 動脈硬化進展に関与する血小板由来炎症性サイトカインが、ずり応力刺激により血小板から発現する機序・血小板細胞内情報伝達を明らかとする。

② 動脈硬化症患者における血小板由来炎症性サイトカインの将来の心血管イベント・プラーク量・プラーク脂質割合への関与、抗血小板薬によるその抑制効果を検討する。

ずり応力による血小板由来炎症性サイトカインの放出反応に着目した報告は未だされておらず、解明されれば打動脈硬化進展機序の新たな知見となりうる。

3. 研究の方法

① ずり応力下における血小板由来炎症性サイトカイン発現動態解析実験

正常人ボランティアから得られた濃厚血小板に補酵素を添加し、Stirring condition で 0-60 分間のずり応力刺激の time course study を施行、上清は血小板から放出された各炎症性サイトカイン (sCD40L, IL-6, IL-1 β) の ELISA 蛋白定量に用いた。その後、分離して得られた洗浄血小板塊は boil したのち -80 度で凍結保存し、Western blot による血小板情報伝達系の解析 (Src, p44/42 MAPK, PKC, cPLA2, PI3, Akt, NHkB) に使用した。

② 頸動脈狭窄症を有する患者における、炎症性サイトカイン値と一年間の心血管イベント、プラーク量、脂質割合との相関の検討 (目標症例数 100 例)

頸動脈狭窄症の患者において、定期的な血清中サイトカイン量測定と頸部 CTA-MPR 画像にて算出したプラーク面積, MRI black-blood 法にて算出したプラーク脂質割合、一年間の

心血管イベントとの相関を解析する。

4. 研究成果

ずり応力下における血小板由来炎症性サイトカインの発現は、sCD40L, IL-1 β 、IL-6 のいずれも有意な時間依存性増加がみられた (sCD40L; 60 分/0 分比 : 2759 ± 1853 ng/ml vs. 192 ± 182 ng/ml, $p < 0.001$, IL-6; 60 分/0 分比 : 5.4 ± 8.7 pg/ml vs. 1.1 ± 2.1 pg/ml, $p = 0.04$)。

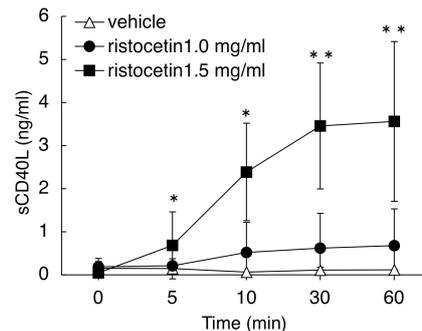


図1: ずり応力刺激による経時的な sCD40L 値の増加

頸動脈狭窄症においては、糖尿病を保有する群で保有しない群に比べて baseline 値が有意に高く、またずり応力刺激の ex vivo 試験でも有意な時間依存性増加が認められた。血管の狭窄部位や脳梗塞患者でずり応力が亢進することが報告されていることから (Fox AJ, et al. Br Heart J 1996, Uchiyama S et al, Stroke 1994)、糖尿病を有する頸動脈狭窄症患者では慢性的なずり応力刺激による血小板由来炎症性サイトカイン産生亢進現象がおこっているものと考えられた。

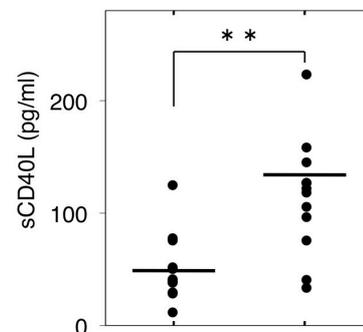


図2: 糖尿病患者 (右)、非糖尿病患者 (左) における baseline の sCD40L 値の比較

頸動脈狭窄症を有する患者における、炎

症性サイトカイン値と一年間の心血管イベント、プラーク量、脂質割合との相関の検討については、目標症例数に達したが、上記検討項目との有意な関連は認められなかった。

しかし、脳梗塞発症群 (sCD40L; $334.9 \pm 471.8\text{ng/ml}$ vs. $82.2 \pm 66.6\text{ng/ml}$, $p=0.25$, IL-6; 6.5 ± 13.9 vs. 1.4 ± 1.44 , $p=0.18$)、不安定プラーク保有群 (sCD40L; $67.4 \pm 27.5\text{ng/ml}$ vs. $334.9 \pm 471.8\text{ng/ml}$, $p=0.22$, IL-6; 4.7 ± 10.5 pg/ml vs. 1.36 ± 0.83 pg/ml, $p=0.20$) では有意ではないものの、炎症性サイトカイン値がいずれも高値の傾向がみられた。

上記機序については、今後も研究を継続していく予定である。

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5件)

- ① Yoshimura S, Yamada K, Kawasaki M, Asano T, Kanematsu M, Miyai M, Enomoto Y, Egashira Y, Iwama T: Selection of carotid artery stenting or endarterectomy based on magnetic resonance plaque imaging reduced periprocedural adverse events. J Stroke Cerebrovasc Dis 22: 1082-1087, 2013 doi: 10.1016 査読有り
- ② Enomoto Y, Yoshimura S, Yamada K, Kawasaki M, Nishigaki K, Minatoguchi S, Iwama T: Silent coronary artery disease in Japanese patients undergoing carotid artery stenting. J Stroke Cerebrovasc Dis 22: 1163-8, 2013 doi: 10.1016 査読有り
- ③ Egashira Y, Suzuki Y, Azuma Y, Takagi T, Mishiro K, Sugitani S, Tsuruma K, Shimazawa M, Yoshimura S, Kashimata M, Iwama T, Hara H: The growth factor progranulin attenuates neuronal injury induced by cerebral ischemia-reperfusion through the suppression of neutrophil recruitment. J Neuroinflammation 10: 105, 2013 doi:10.1186/1742-2094-10-105 査読有り
- ④ Yoshimura S, Kawasaki M, Yamada K, Enomoto Y, Egashira Y, Hattori A, Nishigaki K, Minatoguchi S, Iwama T: Visualization of internal carotid artery atherosclerotic plaques in symptomatic and asymptomatic patients: a comparison of optical coherence tomography and intravascular ultrasound. AJNR Am J Neuroradiol 33: 308-13, 2012 doi: 10.3174/ajnr.A2740 査読有り
- ⑤ 榎本由貴子, 吉村紳一: 頸動脈ステント

留置患者の抗血小板療法. Circulation 12: 44-51, 2012 査読有り

[学会発表] (計3件)

- ① Enomoto Y, Yoshimura S, Egashira Y, Iwama T: Long-term magnetic resonance angiography follow-up of recanalized vessels after mechanical clot extraction. International stroke conference 2013. Honolulu, 2013.2.6-8
- ② Egashira Y, Sugitani S, Suzuki Y, Mishiro K, Tsuruma K, Shimazawa M, Yoshimura S, Iwama T, Hara H: The growth factor progranulin suppresses inflammatory reactions and attenuates neuronal injury induced by cerebral ischemia-reperfusion in mice. International stroke conference 2013. Honolulu, 2013.2.6-8
- ③ Enomoto Y, Yoshimura S, Iwama T (Free paper): Correlation between light transmission aggregometry and VerifyNow assay in the patients undergoing neuroendovascular therapy. 10th Meeting of Asian-Australasian federation of interventional and therapeutic neuroradiology. Nagoya, 2012.6.14-16

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.gifu-u.ac.jp/neurosurgery/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩間 亨 (IWAMA, Toru)

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 20303498

(2) 研究分担者

矢野 大仁 (YANO, Hirohito)
岐阜大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：00332685

大江直行 (OHE, Naoyuki)
岐阜大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：60362159

中山則之 (NAKAYAMA, Noriyuki)
岐阜大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：30444277

榎本由貴子 (ENOMOTO, Yukiko)
岐阜大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：20377659

吉村紳一 (YOSHIMURA, Shinichi)
兵庫医科大学・医学部・教授
研究者番号：40240353

(3) 連携研究者

()

研究者番号：