

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461094

研究課題名(和文) GLP-1受容体作動薬によるプラーク安定化の継時的評価と機序の解明

研究課題名(英文) Promotion of Plaque Stability by Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonist: Serial In Vivo Findings

研究代表者

平山 篤志 (HIRAYAMA, Atsushi)

日本大学・医学部・教授

研究者番号：50459880

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトの動脈硬化病変に類似の所見を示す遺伝性高コレステロール血症ウサギにおいてGLP-1受容体作動薬による動脈硬化プラークの変化について比較した。GLP-1受容体作動薬を投与した群とコントロール群の2群に分けた。投与前および投与12週間後の血管内超音波検査解析および投与12週間後に行った病理学的解析よりGLP-1受容体作動薬を投与した群はコントロール群と比較し動脈硬化性プラークの質の安定化を示唆する所見を認めた。GLP-1受容体作動薬は、ヒト冠動脈プラークに対しても安定化作用を示唆した。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effects of glucagon-like peptide-1(GLP-1) on atherosclerotic plaque in Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbit. The WHHL rabbits were divided into GLP-1 group or control group. GLP-1 receptor agonist was administered by osmotic pump in GLP-1 group. Same volume of normal saline was administered in control group. Atherosclerotic plaques in brachiocephalic arteries were evaluated in vivo by Intravascular Ultrasound (IVUS) before and 12 weeks after GLP-1 receptor agonist treatment. Finally, the arteries were harvested and the atherosclerotic plaques were evaluated with pathological analysis. In comparison to control group, IVUS analysis revealed that GLP-1 receptor agonist inhibited plaque development with less plaque growth and increased plaque stability. Pathological analysis confirmed the IVUS findings with increased fibrotic content. Our study suggested that GLP-1 receptor agonist may stabilize atherosclerotic plaque.

研究分野：循環器

キーワード：動脈硬化

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 小腸 L 細胞から分泌されるインクレチンホルモンであるグルカゴン様ペプチド-1 (Glucagon-like peptide-1, GLP-1) は、グルコース濃度依存的に膵細胞からインスリンを分泌させる。GLP-1 は膵臓以外にも脳神経系、胃、腎臓、骨格筋、肺、心血管系など多様な臓器に作用を示す。しかしながら GLP-1 受容体作動薬による動脈硬化進展抑制の臨床研究はいまだ報告されておらず、動脈硬化モデルである Apo E 欠損マウスを用いた動物実験が報告されているだけである。

(2) マウスを用いた実験は、均一な条件で比較実験を行うことができるが、現時点では一定期間経過した後には剖検病理で効果を見る横断研究のみが可能であるため、同一のプラークを経時的に変化をみることはできない。個体の小ささなどの限界により、血管内イメージングを継時的に繰り返して施行することが困難なためである。

(3) 遺伝性高コレステロール血症ウサギ (Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit, WHHL ウサギ) は Watanabe によって 1973 年に発見された高脂血症を示す日本白色ウサギに由来し、1980 年に系統交配させて確立された。WHHL ウサギの高脂血症は LDL 受容体の遺伝子異常に基づいて血中の LDL の異化が遅延することに由来する。その後選抜交配により、28 月齢における心筋梗塞の累積発生率が 98% の WHHL ウサギの一群が作られ、WHHL-myocardial infarction (MI) ウサギと命名された。

## 2. 研究の目的

WHHL-MI ウサギにおいて、3 か月にわたって、GLP-1 受容体作動薬を投与した群と、生理食塩水を投与したコントロール群の 2 群について、血管内超音波 (Intravascular ultrasound, IVUS)、光干渉断層計 (Optical coherence tomography, OCT) で投与前後を観察し、動脈プラークの量ならびに組織成分

の変化について比較検討することにある。さらに安楽死後に病理標本を作製し、病理組織学的に 2 群間を比較検討することで、GLP-1 受容体作動薬のプラークに対する影響を明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

10-12 月齢の WHHL-MI ウサギをコントロール群と GLP-1 受容体作動薬投与群 (GLP-1 群) の 2 群に分けた。薬剤投与前、投与 3 か月後の腕頭動脈に対して血管内イメージング (IVUS、OCT) を用いて動脈硬化プラークの進展について観察した。更に薬剤投与 3 か月後の腕頭動脈を摘出し病理標本を作製し観察した。作成した切片に対し、Hematoxylin-eosin 染色、Elastica van Gieson 染色、Masson's trichrome 染色を施行し石灰化成分面積、線維成分面積、壊死+脂質成分面積を比較した。さらにウサギのマクロファージ、平滑筋細胞 (Smooth muscle cell, SMC) を識別する為に免疫染色を行い 2 群間で比較検討した。

## 4. 研究成果

### (1) OCT 評価

OCT は造影剤を用いて観察部位の血液を一時的に除去することで鮮明な画像を観察することができる。しかし、腕頭動脈は弓部大動脈からの分岐直後のため、血管内の血液を完全に除去することが困難であり、プラーク画像解析および評価に値する結果を得ることができなかった。

### (2) IVUS 評価

IVUS による検討では薬剤投与 3 か月後のプラークの質については壊死性プラーク割合、石灰化プラーク割合はコントロール群において有意に多く認められ、線維性プラーク割合は GLP-1 群において多く認められた。薬剤投与前、投与 3 か月後を比較すると、プラークの質の変化はコントロール群において壊死性プラーク割合、石灰化プラーク割合が増加し、線維性プラーク割合は低下した。

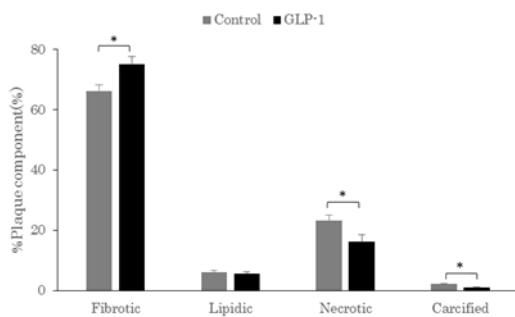


図1 3か月後 IVUS 評価

### (3) 病理学的所見

実験終了時に採取した腕頭動脈を組織標本として評価を行ったところ、コントロール群ではマクロファージ組織成分、石灰化組織成分を多く認め、GLP-1 群では平滑筋細胞組織成分および線維性組織成分を多く観察した。

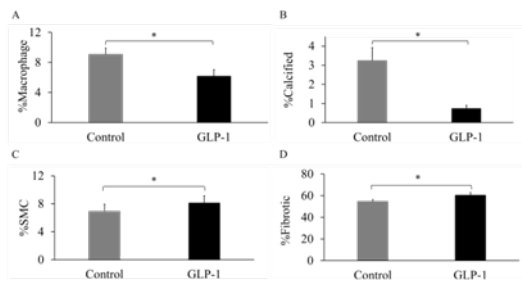


図2 病理学的評価

### (4) 結語

WHHL-MI に対して GLP-1 受容体作動薬を投与することでプラークの質の安定化を示唆する所見を認めた。GLP-1 受容体作動薬は、ヒト冠動脈プラークに対しても安定化作用を示唆した。

### 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)

Zheng G, Li Y, Takayama T, Nishida T, Sudo M, Haruta H, Fukamachi D, Okubo K, Higuchi Y, Hiro T, Saito S, Hirayama A. The Spatial Distribution of Plaque Vulnerabilities in Patients with Acute Myocardial Infarction. PLoS One、査読有、11 巻、2016、e0152825

DOI:10.1371/journal.pone.0152825

Takayama T, Komatsu S, Ueda Y, Fukushima

S, Hiro T, Hirayama A, Saito S; ALTAIR study group.

Comparison of the Effect of Rosuvastatin 2.5 mg vs 20 mg on Coronary Plaque Determined by Angioscopy and Intravascular Ultrasound in Japanese With Stable Angina Pectoris (from the Aggressive Lipid-Lowering Treatment Approach Using Intensive Rosuvastatin for Vulnerable Coronary Artery Plaque [ALTAIR] Randomized Trial).

Am J Cardiol、査読有、117 巻、2016、1206-1212、DOI:10.1016/j.amjcard

Zheng G, Li Y, Huang H, Wang J, Hirayama A, Lin J, 査読有、PloS One, 10 巻、2015、e0133433,

DOI:10.1371/journal.pone.0133433

Sudo M, Hiro T, Takayama T, Iida K, Nishida T, Fukamachi D, Kawano T, Higuchi Y, Hirayama A.

Tissue characteristics of non-culprit plaque in patients with acute coronary syndrome vs. stable angina: a color-coded intravascular ultrasound study. Cardiol、66 巻、査読有

2015、388-94、DOI: 10.1016/j.jjcc

Komatsu S, Ohara T, Takahashi S, Takewa M, Minamiguchi H, Imai A, Kobayashi Y, Iwa N, Yutani C, Hirayama A, Kodama K. Early detection of vulnerable atherosclerotic plaque for risk reduction of acute aortic rupture and thromboemboli and atheroemboli using non-obstructive angioscopy. Circ J、2015、79 巻、742-750. DOI: 10.1253/circj.CJ-15-0126. 査読有

#### [学会発表](計5件)

Guian Zheng, Tadateru Takayama, Yuxin Li, Yoshiharu Higuchi, Daisuke Fukamachi, Hironori Haruta, Mitumasa Sudo, Toshihiko Nishida, Satoshi Saito, Takafumi Hiro, Atsushi Hirayama Plaque Spatial Distribution of the Sites of Potential Vulnerability of Culprit

Lesions Implicated in Acute Myocardial Infarction

第 80 回日本循環器学会学術集会  
2016.3.18-3.20、仙台国際センター、宮城県、仙台市

Yuxin Li, Takafumi Hiro, Tadateru Takayama, Guian Zheng, Qing-Fei Lin, Yoshiharu Higuchi, Daisuke Fukamachi, Mitsumasa Sudo, Toshihiko Nishida, Satoshi Saito, Tsutomu Hirano, Atsushi Hirayama

Different Roles of sdLDL Cholesterol and HDL Cholesterol Subfractions in Predicting Plaque Burden and Composition of Coronary Culprit Lesions  
2016.3.18-3.20、仙台国際センター、宮城県、仙台市

西田 俊彦, 廣 高史, 高山 忠輝, 飯田 維人, 須藤 晃正, 春田 裕典, 深町 大介, 川野 太郎, 奥村 恭男, 金井 孝司, 樋口 義治, 齋藤 穎, 平山 篤志

光干渉断層撮影法を用いた冠動脈内新生血管(micro channel;MC)の検出と血管内視鏡によるその臨床的意義の検討  
第 63 回日本心臓病学会学術集会  
2015.9.18-9.20、パシフィコ横浜、神奈川県、横浜市

須藤 晃正, 廣 高史, 高山 忠輝, 三俣 昌子, 平山 篤志

家畜ブタを用いた薬剤溶出性ステント留置後リパロキサバンによる抗血栓効果および新生内膜修復効果の検討  
第 63 回日本心臓病学会学術集会  
2015.9.18-9.20、パシフィコ横浜、神奈川県、横浜市

春田 裕典, 廣 高史, 須藤 晃正, 深町 大介, 西田 俊彦, 李 よきん, 平山 篤志, 高山 忠輝

遺伝性高コレステロール血症ウサギ WHHL-MI における HMG-CoA 還元酵素阻害薬 ピタバスタチンによる動脈硬化性プラーク進展抑制のメカニズム  
第 63 回日本心臓病学会学術集会  
2015.9.18-9.20、パシフィコ横浜、神奈川県、横浜市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等 なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

平山 篤志 (HIRAYAMA, Atsushi)  
日本大学・医学部・教授  
研究者番号: 50459880

### (2) 研究分担者

廣 高史 (HIRO, Takafumi)  
日本大学・医学部・教授  
研究者番号: 10294638

三俣 昌子 (MITSUMATA, Masako)  
日本大学・医学部・兼任講師  
研究者番号: 40064589