

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462160

研究課題名(和文) アディポサイトカインをターゲットとした大動脈瘤形成抑制効果の検討

研究課題名(英文) The protective effects of adiponectin of CaCl<sub>2</sub>-induced aneurysm formation

研究代表者

徳永 晴策 (TOKUNAGA, Seisaku)

名古屋大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：70646520

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：腹部大動脈瘤は動脈硬化が原因で発症すると考えられているが、その機序は不明である。我々は、動脈瘤形成とインスリン抵抗性との関連について基礎的検討を行った。マウス腹部大動脈瘤モデル作成を確立し、インスリン抵抗性改善作用薬 PPAR-ガンマagonistが動脈瘤抑制効果を有することを見出した。さらにPPAR-ガンマagonistが、アディポネクチン濃度を増加させた。アディポネクチン遺伝子欠損マウス (APN-KO)に動脈瘤モデルを作成したところ、APN-KOマウスの動脈瘤径は、野生型マウスと同程度であった。その動脈瘤抑制効果は、アディポネクチン非依存性であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Abdominal aortic aneurysm (AAA) is a feature of various vascular disorders including atherosclerosis and hypertension. A peroxisome proliferator-activated receptor- (PPAR ) ligand, pioglitazone is a relative new class of oral agent for the treatment of type 2 diabetes and insulin resistance. Pioglitazone has beneficial effects on endothelial function, hypertension and atherosclerosis. Here we investigated the effect of pioglitazone on AAA. The AAA model was induced by CaCl<sub>2</sub> in male mice, and mice were treated with pioglitazone as food admixture at a concentration of 0.01%. Treatment of wild-type (WT) mice with pioglitazone attenuated CaCl<sub>2</sub>-induced aneurysm formation in mice. Pioglitazone also increased plasma adiponectin level in WT mice. However, adiponectin-deficient mice did not affect in CaCl<sub>2</sub>-induced aneurysm formation. These data provide direct evidence that pioglitazone protects against CaCl<sub>2</sub>-induced aneurysm formation via an adiponectin-independent mechanism.

研究分野：血管外科学

キーワード：動脈瘤、アディポネクチン

## 1. 研究開始当初の背景

腹部大動脈瘤の形成や進展におけるメカニズムを解明してその原因を明らかとして、その治療法を確立することは、臨床的に大変意義があると考えられる。2005年に山口大学のグループにより C-Jun aminoterminal kinase (JNK) の活性化を抑制することで、腹部大動脈瘤の進展を抑制することが可能であることが報告されたこと等、この領域での研究は進められているものの、まだまだ少なく特に分子科学的レベルでのアプローチはまた新しい領域と考えられている。肥満症やメタボリックシンドロームは高率に糖尿病、高脂血症、高血圧を合併し、これらの動脈硬化危険因子が蓄積することにより、心筋梗塞や閉塞性動脈硬化症といった心血管疾患を発症させる。病態の上流には、内蔵脂肪の蓄積があり、脂肪細胞から分泌されるアディポネクチン、レプチン、ヒト腫瘍壊死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、レジスチン、MCP-1をはじめとする様々なアディポサイトカインとの関連が明らかにされてきている。これらアディポサイトカインの産生異常は、動脈硬化危険因子となりうる種々の代謝異常を引き起こすばかりではなく、直接に、血管障害機序に関与することが明らかとなってきた。抗炎症性の作用をもつアディポネクチンに関しての知見が広がる中で、メタボリックシンドロームにおいて、脂肪細胞が肥大化してマクロファージが浸潤し MCP-1 や TNF- $\alpha$  などの産生は増加し、アディポネクチンの産生は抑制され、脂肪組織自身も炎症性変化をきたしていると考えられ、この点は動脈硬化における動脈壁の細胞外マトリックスの変化や平滑筋細胞の増殖などの炎症性変化との機序の類似性が指摘されている。動脈硬化における血管壁のリモデリングの過程と炎症性サイトカインのネットワークを引き起こすメタボリックシンドロームにおける脂肪細胞の働きとの関係は興味深く思われる。以上

のように動脈硬化とアディポサイトカインの関係についての研究成果は近年著しく成果をあげており、これらの成果は動脈硬化と関連して発症する大動脈瘤の形成メカニズムの解明に発展する可能性が極めて高いと期待される。しかしながら、腹部大動脈瘤とアディポサイトカインとの関連ならびにそれをターゲットとした薬物治療については、詳細な検討は全くされていない。そこで今回我々は、大動脈瘤の形成および進展の抑制を目的とした新しい治療戦略としてアディポサイトカインに初めて注目した。

## 2. 研究の目的

腹部大動脈瘤形成および進展と肥満、メタボリックシンドロームとの関連を明らかにし、さらにこれらの病態に伴うアディポサイトカイン産生異常をターゲットとした新たな血管病治療戦略を提示することにある。マウス腹部大動脈瘤モデルを用いることにより肥満、メタボリックシンドロームの発症基盤として最重要因子である「インスリン抵抗性」「アディポサイトカイン」の大動脈瘤形成、進展への関与を検討する。具体的には、PPAR- $\gamma$  アゴニストによる大動脈瘤形成抑制効果の検討、アディポサイトカインによる大動脈瘤形成抑制効果の検討、大動脈瘤形成におけるマトリックスメタロプロテアーゼとアディポサイトカインの関連を検討する。

## 3. 研究の方法

本研究は、肥満症、メタボリックシンドローム患者の大動脈瘤形成、進展への病態解明を企図するものであり、さらにはインスリン抵抗性やアディポサイトカインをターゲットとした新たな大動脈瘤治療の可能性を探ることになる。具体的には以下の実験を行う。

(1) PPAR- $\gamma$  agonist による大動脈瘤形成抑制効果の検討 PPAR- $\gamma$  agonist はインスリン抵抗性改善作用を有し、II 型糖尿病患者に広く用いられている。近年、血糖降下作用のみならず、抗動脈硬化をはじめとする多彩な作用を持ち合わせていることが報告されている。そこで、

本研究ではPPAR- agonist が大動脈瘤形成、進展抑制効果を有するかどうかを検討することとする。

(2) アディポサイトカインによる大動脈瘤形成抑制効果の検討 PPAR- agonist はアディポネクチンの分泌促進やMCP-1 発現低下作用を有することが報告されている。そこで、PPAR- agonist の大動脈瘤形成、進展抑制効果が確認された場合、そのメカニズムとして、アディポサイトカインの関与を検討する。

(3) 大動脈瘤形成におけるマトリックスメタロプロテアーゼとアディポサイトカインの関連検討 動脈壁の細胞外マトリックスの変化や平滑筋細胞の増殖などの炎症性変化が動脈瘤形成の機序の一部として考えられることから、マトリックスメタロプロテアーゼとアディポサイトカインの関連を検討し動脈瘤形成の機序を探る。

#### 4. 研究成果

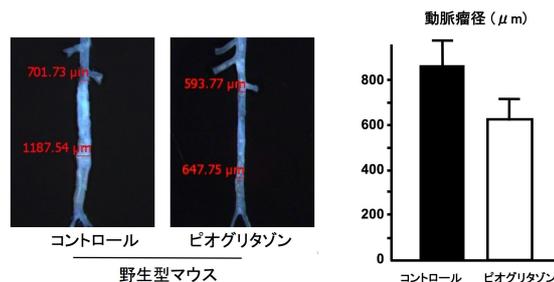
##### CaCl<sub>2</sub>塗布によるマウス動脈瘤モデルの作成

野生型マウス(C57/BL6)を用いて CaCl<sub>2</sub> 塗布による腹部大動脈瘤モデルを作成し得た。ネンブタールにて麻酔した野生型マウスに腹部正中切開を行い腹部大動脈を露出させ、0.5M CaCl<sub>2</sub> 溶液に 15 分間暴露した後、生理食塩水で腹腔内をよく洗浄して再び創を閉じることで作成した。手術後約 6 週間後に腹部大動脈瘤を形成されていることを確認し、血管を摘出した。以上の手法により本モデル作成をし得た。

##### PPAR- agonist による大動脈瘤形成抑制効果の検討

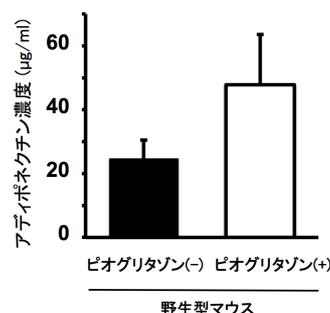
野生型マウスをPPAR- agonist (ピオグリタゾン) 投与群とコントロール投与群の 2 群に分け、それぞれ1週間経口投与した(混餌投与)。1週間後、CaCl<sub>2</sub>塗布腹部大動脈瘤マウスモデルを作成した。薬剤の混餌投与は引き

続き行った。術後6週後に標本を摘出し、動脈瘤径の比較検討を行った。その結果、PPAR- agonist (ピオグリタゾン) 投与群では、コントロール群に比較し、有為に大動脈瘤径を抑制していた(下図)。



##### PPAR- agonist による大動脈瘤形成抑制効果の機序検討

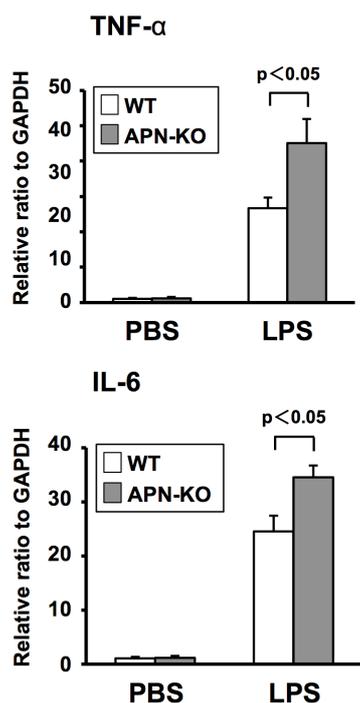
PPAR- agonist (ピオグリタゾン) は、脂肪細胞分化誘導と肥大化細胞のアポトーシスを介して脂肪細胞を小型化させ、脂肪組織由来因子「アディポネクチン」の分泌を増加させる。我々は、野生型マウスにPPAR- agonist (ピオグリタゾン) 投与後にアディポネクチン濃度を測定したところ、その血中濃度がコントロールと比較して1.8倍増加していることを確認した(下図)。



##### アディポネクチンの心血管組織における抗炎症作用

PPAR- agonist (ピオグリタゾン) 投与により増加するアディポネクチンは、強力な抗炎症作用を有することが知られている。そこで、我々は、アディポネクチンの心血管組織における抗炎症効果に関して検討した。野生型マウスおよびアディポネクチン遺伝子欠損(APN-KO)マウスに、LPS (10mg/kg) を単回腹腔内注射し、心血

管組織に急性炎症を惹起した。LPS投与6時間後を評価したところ、野生型マウスに比較してアディポネクチン遺伝子欠損マウス (APN-KO) では、著明な心機能低下とTNF や IL-6などの炎症性サイトカインの増加を認めた(下図)。



#### アディポネクチン遺伝子欠損マウスを用いた腹部大動脈瘤マウスモデルの検討

アディポネクチン遺伝子欠損マウスを用いてCacl2塗布腹部大動脈瘤マウスモデルを作成した。その結果、アディポネクチン遺伝子欠損マウスの大動脈瘤径は、野生型マウスの大動脈瘤径と同程度であった。以上からPPAR-agonistの動脈瘤抑制効果は、アディポネクチン非依存性であると考えられた。

#### アンジオテンシン 誘発腹部大動脈瘤モデルマウスの作成

Cacl2 塗布による腹部大動脈瘤モデルのみならず、ApoE 欠損マウスにアンジオテンシン II を負荷することにより腹部大動脈瘤を発症させる腹部大動脈瘤発症モデルを作成した。具体的には、ApoE 欠損マウスに AngII (1000 ng/min/kg) をマイクロ浸透圧ポンプ

に注入し、そのポンプを 8 週齢の雄 ApoE 欠損マウスの両肩甲骨中央部の皮下に移植し、持続投与した。手術後約 4 週間後に腹部大動脈瘤を形成されていることを確認し、血管を摘出した。腎上の大動脈直径が 50%以上増加しているものとした。以上の手法により本モデル作成をし得た(右図)。



#### 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 11 件)

- Hayashi K, Hirashiki A, Kodama A, Kobayashi K, Yasukawa Y, Shimizu M, Kondo T, Komori K, Murohara T Impact of preoperative regular physical activity on postoperative course after open abdominal aortic aneurysm surgery. Heart Vessels. 2016. [in press] 査読有
- Yamamoto K, Komori K, Narita H, Morimae H, Tokuda Y, Araki Y, Oshima H, Usui A A 'through-and-through bowing technique' for antegrade thoracic endovascular aneurysm repair with total arch debranching: a technical note and the initial results. Eur J Cardiothorac Surg. 2016. [in press] 査読有
- Kojima M, Carlos T, Yamamoto K, Ikeda S, Ooe K, Arai F, Komori K, Fukuda T Evaluation of Active Catheter for Branched Stent Graft with Numerical Simulation under Pulsatile Flow. 日本ロボット学会誌.2016 [in press] 査読有
- Tokuda Y, Oshima H, Narita Y, Abe T, Araki Y, Mutsuga M, Fujimoto K, Terazawa S, Yagami K, Ito H, Yamamoto K, Komori K, Usui A: Hybrid versus open repair of aortic archaneurysms: comparison of postoperative and mid-term outcomes with a propensity score-matching analysis. 査読有 Eur J Cardiothorac Surg. 49(1):149-56,2016 doi: 10.1093/ejcts/ezv063.
- Ihara T, Komori K, Banno H, Kodama A, Yamamoto K, Sugimoto M: Relationship between the distal migration and length of the distal landing zone after endovascular aneurysm repair (EVAR). Surg Today. 46(1):56-61,2016 査読有 <http://link.springer.com/article/10.1007/s00595-014-1100-4>

6. Shi C, Tercero C, Wu X, Ikeda S, Komori K, Yamamoto K, Arai F, Fukuda T Real-time in vitro intravascular reconstruction and navigation for endovascular aortic stent grafting. 査読有 Int J Med Robot. 2016 [in press],2015doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.07.016.査読有
7. Sugimoto M, Kodama A, Narita H, Banno H, Yamamoto K, Komori K: Pre- and Intraoperative Predictors of Delirium after Open Abdominal Aortic Aneurysm Repair. Ann Vasc Dis. 8(3):215-9,2015 査読有 doi: 10.3400/avd.oa.15-00054.
8. Yamamoto K, Komori K, Banno H, Narita H, Kodama A, Sugimoto M: Validation of Patient Selection for Endovascular Aneurysm Repair or Open Repair of Abdominal Aortic Aneurysm - Single-Center Study. Circ J. 79(8):1699-705,2015
9. Tanaka A, Ishii H, Oshima H, Narita Y, Kodama A, Suzuki S, Komori K, Usui A, Murohara T: Inverse association between diabetes and aortic dilatation in patients with advanced coronary artery disease. Atherosclerosis. 242(1):123-127, 2015 doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.07.016.査読有
10. Oshima H, Yamamoto K, Komori K, Usui A: Usefulness of bridging thoracic endovascular aortic repair and sac irrigation followed by open repair in patients with mycotic thoracic aortic aneurysms. J Thorac Cardiovasc Surg. 148:2422-4,2014 doi: 10.1016/j.jtcvs.2014.06.088.査読有
11. Ihara T, Komori K, Yamamoto K, Kobayashi M, Banno H, Kodama A: Three-Dimensional Workstation is Useful for Measuring the Correct Size of Abdominal Aortic Aneurysm Diameters. Ann Vasc Surg. 27(2):154-161,2013 doi: 10.1016/j.avsg.2012.03.009. 査読有

〔学会発表〕(計10件)

1. 坂野比呂志、徳永晴策、小山明男、田畑光紀、前川卓史、児玉章朗、成田裕司、山本清人、古森公浩  
当科における傍腎動脈腹部大動脈瘤に対する Open repair の成績  
第115回日本外科学会定期学術総会  
(2015年4月16日～18日名古屋国際会議場愛知県名古屋市)
2. 成田裕司、田畑光紀、徳永晴策、小山明男、前川卓史、杉本昌之、児玉章朗、坂野比呂志、山本清人、古森公浩  
弓部大動脈瘤に対する Total debranching TEAVER の成績  
第55回日本脈管学会総会  
(2014年10月30～11月1日 倉敷市芸文館 岡山県倉敷市)
3. 成田裕司、田畑光紀、徳永晴策、小山明男、宮地紘樹、高橋範子、森前博文、杉本昌之、児玉章朗、山本清人、碓氷章彦、古森公浩  
弓部大動脈瘤に対する Hybrid 手術 - Total debranching TEVAR と Elephant trunk TEVAR -  
第20回日本血管内治療学会総会  
(2014年6月20日～21日ホテル アバローム紀の国 和歌山県和歌山市)
4. 杉本昌之、徳永晴策、田畑光紀、小山明男、宮地紘樹、高橋範子、森前博文、児玉章朗、成田裕司、山本清人、古森公浩  
傍腎動脈腹部大動脈瘤に対する Open surgery の成績  
第42回日本血管外科学会学術総会  
(2014年5月21日～23日リンクステーションホール青森、ホテル青森 青森県青森市)
5. 山本清人、徳永晴策、田畑光紀、小山明男、宮地紘樹、高橋範子、渡辺芳雄、森前博文、杉本昌之、児玉章朗、成田裕司、古森公浩  
腹部大動脈瘤治療における EVAR 時代の人工血管置換術の意義  
第44回日本心臓血管外科学会学術総会  
(2014年2月19～21日ホテル日航熊本、熊本県民交流館パレア、鶴屋ホール 熊本県熊本市)
6. Narita H, Komori K, Usui A, Yamamoto K, Kodama A, Sugimoto M, Morimae H, Watanabe Y, Takahashi N, Miyachi H, Koyama A, Tokunaga S:  
Postoperative and Midterm Outcomes of Thoracic Endovascular Aneurysm Repair in the Treatment of Aortic Arch Aneurysms: A Single Center Experience  
14th Congress of Asian Society for Vascular  
(October 26-29,2013 Istanbul Turkey)
7. Yamamoto K, Morimae H, Sugimoto M, Kodama A, Narita H, Komori K:  
Usefulness of the Antegrade Gore Tag Deployment Using “Through and Through Bowing Technique” with Total Arch Debranching and its Initial Outcome.  
14th Congress of Asian Society for Vascular  
(October 26-29,2013 Istanbul Turkey)
8. 成田裕司、古森公浩、碓氷章彦、山本清人、児玉章朗、井原 努、杉本昌之、渡辺芳雄、高橋範子、宮地紘樹、小山明男、徳永晴策、初田 葵  
弓部大動脈瘤に対する当院での治療方針 Elephant trunk TEVAR  
第113回日本外科学会定期学術総会  
(2013年4月11日～13日福岡国際会議場福岡県福岡市)
9. 古森公浩  
腎動脈再建を伴う腹部大動脈瘤手術  
第113回日本外科学会定期学術総会

(2013年4月11日～13日福岡国際会議場  
福岡県福岡市)

10. 成田裕司、初田葵、徳永晴策、小山明男、宮地紘樹、高橋範子、渡辺芳雄、杉本昌之、井原努、児玉章朗、坂野比呂志、山本清人、古森公造

EVAR 導入後の当院における腹部大動脈治療  
成績-EVAR と Open の比較

第 43 回 日本心臓血管外科学会学術総会

(2013年2月25～26日ホテル グランパシフィック LE DAIBA 東京都港区)

[その他] ホームページ等

1. 名古屋大学医学部大学院医学系研究科血管外科 : <http://www.vasc Surg.jp/>
2. 名古屋大学・医学部大学院医学系研究科血管外科学(外科学第一):  
<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/6391/6429/kekangekagaku.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

徳永 晴策 (TOKUNAGA, SEISAKU)

名古屋大学・医学部附属病院・医員

研究者番号 : 70646520

### (2) 研究分担者

古森 公浩 (KOMORI, KIMIHIRO)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号 : 40225587

坂野 比呂志 (HIROSHI, BANNO)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号 : 80584721

(平成 26 年度 平成 27 年度)

児玉 章朗 (AKIO, KODAMA)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号 : 10528748

前川 卓史 (MAEKAWA, TAKASHI)

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号 : 70732684

(平成 26 年度 平成 27 年度)

柴田 玲 (SHIBATA, REI)

名古屋大学・大学院医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号 : 70343689

杉本 昌之 (MASAYUKI, SUGIMOTO)

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号 : 00447814

(平成 25 年度 平成 26 年度)