

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861236

研究課題名(和文)大動脈解離の病態解明による革新的な薬物療法の開発

研究課題名(英文)The development of innovative drug therapy in aortic dissection

研究代表者

西田 憲史(NISHIDA, Norifumi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：50624508

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)：マウス大動脈解離モデルはピオグリタゾン投与により病変長が増悪した。ナトリウム摂取過剰が炎症性サイトカインであるIL-17を介して大動脈解離を増悪させたことから、ピオグリタゾンの副作用であるナトリウム貯留作用が大動脈解離を増悪させた可能性が示唆された。またDNAマイクロアレイの結果から解離増悪のメカニズムとして細胞外マトリックスが重要な鍵を握っていることを明らかになった。ナトリウム摂取制限は実臨床での応用につながりやすいことから、今後もその分子メカニズム解明に向けて研究を継続する。

研究成果の概要(英文)：In this project, we investigated whether pioglitazone suppresses aortic dissection. Unexpectedly, pioglitazone worsened the aortic dissection in mice. We hypothesized that sodium retention by pioglitazone might be the underlying mechanism. In fact, excessive sodium intake worsened aortic dissection through IL-17 pathway. Transcriptome analysis of aortae before the onset of aortic dissection showed strong induction of proinflammatory genes and suppression of extracellular matrix genes. Deletion of IL-17 gene resulted in the augmented expression of extracellular matrix genes and enhanced collagen deposition. From these results, we concluded that IL-17 suppresses the extracellular matrix synthesis, which in turn worsens aortic dissection. We will continue to explore the mechanism of aortic dissection, focussing on the roles of IL-17 and extracellular matrix.

研究分野：血管外科、分子血管病態学

キーワード：大動脈解離 ピオグリタゾン 塩分過剰 IL-17

1. 研究開始当初の背景

【臨床的背景】

大動脈解離は大動脈中膜が突然断裂する致死性疾患である。本邦において年間約1万例と推定される発症者のうち約4000例が手術対象となっており、なお増加傾向にある。社会的責任が大きくなる50歳以上の男性に多く発症することから、社会的な影響も大きい。Stanford A型解離では致死性合併症が多いため人工血管置換術が行なわれ、術後には遠位部に解離腔を残すことが多い。Stanford B型解離では保存的に加療される。術後残存解離やStanford B型解離では組織破壊の進行により解離部の瘤化、破裂、種々の臓器合併症を起こすが、その病態は殆ど解明されておらず、降圧療法以外の積極的な薬物療法は存在しない。

【学術的背景と研究代表者独自の知見】

解離の分子病態解析が可能な動物モデルが存在しないことが、原因解明や解離後の病態解明を妨げている。研究代表者らは、大動脈疾患の解明を進める中で、マウス腹部大動脈にCaCl₂を塗布して線維化による硬化を誘発した後にアンジオテンシンII (AngII)を持続投与すると、大動脈解離を発症することを発見した。病理組織ではほぼ正常な中膜が突然断裂するヒト解離の特徴をよく再現していた(図1)。

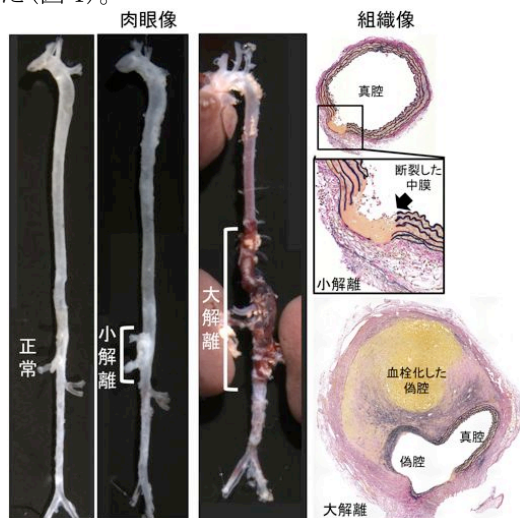


図1 研究代表者が発見した解離モデル

中膜の突然の破断というヒト大動脈解離の特徴を良く再現するマウスモデルである。AngII投与1週間で小解離を発症し、その後4週目までに大解離に進展増悪する。

この解離モデルではAngII投与開始後1週間までに上腹部大動脈に1mm以内の小解離を発症し、その後、下胸部から腹部に及ぶ大解離へと進展する。特殊な遺伝子操作を必要とせず、発症及び進展の予測可能な世界初のマウス解離モデルである。

研究代表者は、このマウス解離モデルを用いることで、これまで困難だった大動脈解離の

分子病態解析が可能になることに気づいた。さらに、臨床的に最大の課題である、解離発症後の進展を阻止する血管安定化療法の開発が可能となると考え、本研究を着想した。研究代表者らは上記の解離モデルを利用し、マクロファージ特異的に炎症性サイトカイン感受性を亢進させたマウス(マクロファージSOCS3ノックアウト)で解離が増悪することを発見した(第76回日本循環器学会総会、第35回日本高血圧学会総会で発表)。また、従来の研究から、IL-6が解離の増悪因子であることが示唆されている(J Clin Invest 2009)。したがって、血管の炎症シグナルは解離増悪に対する有望な治療標的と考えられる。

臨床で頻用されている薬物では、チアゾリジンおよびスタチンに抗炎症作用が知られている。チアゾリジン系薬物は、善玉サイトカインであるアディポネクチンを介して動脈硬化等の病態で抗炎症作用を示すことが報告されている。アディポネクチン受容体は肝臓や筋肉に加え、血管にも豊富に存在している(Yamauchi, Nature 2003)。研究代表者は、マウスの解離組織において、主に中膜断裂部および偽腔壁にアディポネクチンが発現していることを見いだした(図2、未発表)。

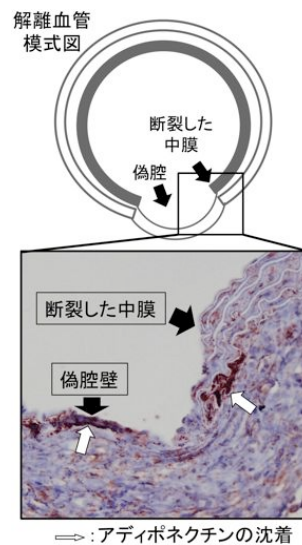


図2 マウス大動脈解離におけるアディポネクチン (自験)

以上のことから、チアゾリジン系薬物は大動脈解離に対して抗炎症作用を発揮し、解離発症予防や増悪抑制が期待されると考えた(図3)。

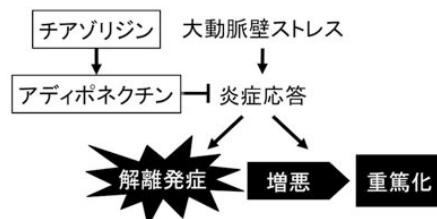


図3 本研究の病態仮説

2. 研究の目的

本研究の目的は、大動脈解離に対するチアゾリジン系薬物の効果と分子機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

大動脈解離マウスモデルとして、研究代表者独自の $\text{CaCl}_2 + \text{Ang II}$ による大動脈解離モデル及びコラーゲン/エラスチン架橋酵素阻害薬 BAPN と Ang II 投与による大動脈解離モデル (BAPN+ Ang II モデル、Circulation 2012 改変) を用いた。

計画 1. 解離モデルの組織学的検討

$\text{CaCl}_2 + \text{Ang II}$ による大動脈解離モデルを用いて、高率に解離を発症する腹腔動脈及び上腸間膜動脈分岐部の大動脈組織を採取し、HE 染色、EVG 染色、マッソントリクトーム染色、ピクロシリウスレッド染色を行った。

計画 2. ピオグリタゾンが大動脈解離へ及ぼす影響の検討とそのメカニズムの解明

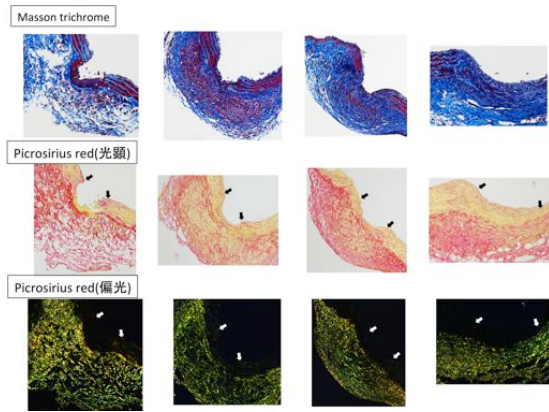
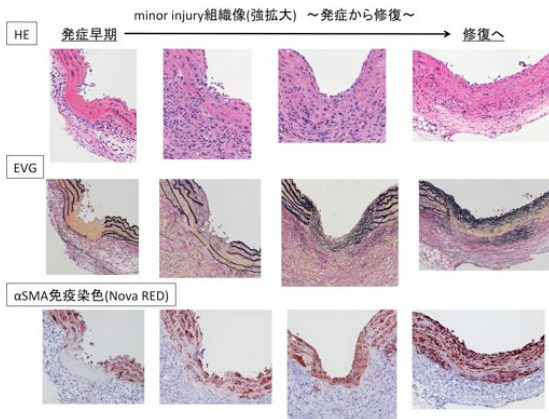
ピオグリタゾン (0.025% 餌混入) を経口投与させた野生型マウスに BAPN (150mg/kg/day) + Ang II (1000ng/kg/min) モデルを作成し、大動脈解離への効果を確認した。大動脈解離重症度の評価としては、大動脈解離病変長を用いた。

メカニズム解明の方法として、ピオグリタゾンの作用 (ナトリウム貯留) に着目し、Na 過剰状態が大動脈解離に及ぼす影響を検討するとともに、DNA マイクロアレイを用いて網羅的に解析し検討した。

4. 研究成果

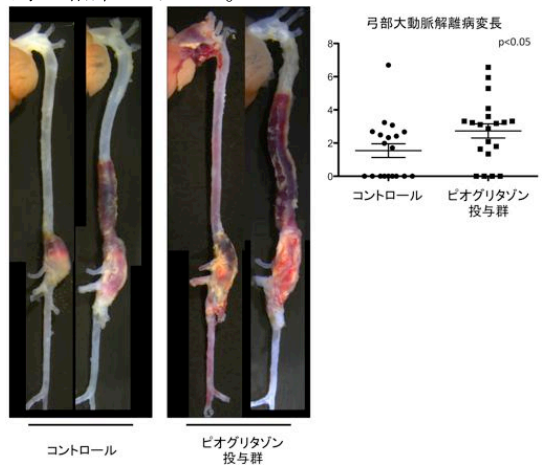
成果 (1) マウスにおける大動脈中膜離断は、必ずしも大動脈解離を発症せず、修復する場合もある。

腹腔動脈、上腸管膜動脈分岐部に中膜の離断 (エラスチン破壊) が起こり、炎症細胞浸潤、中膜平滑筋の消失が起こるものの、偽腔や血栓形成といったいわゆる大動脈解離を発症せず、エラスチン、中膜平滑筋が再生し、修復される一連の経過を病理組織学的に明らかにした。



成果 (2) ピオグリタゾンは大動脈解離病変長を増悪させる。

下図の通り、ピオグリタゾン投与は弓部大動脈解離病変長を増悪させた。これは仮説と反対の結果であった。

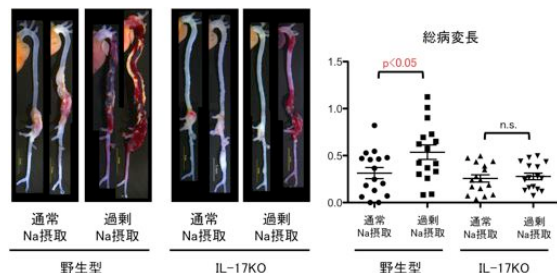


このメカニズム解明のため、我々はピオグリタゾンの Na 貯留作用に注目した。Na 過剰は心血管イベントの危険因子であり、炎症応答の中心的役割を果たす Th-17/IL-17 経路を活性化させることが報告されている。

そこで、Na 過剰が大動脈解離へ及ぼす影響及び IL-17 の関与を検討した。

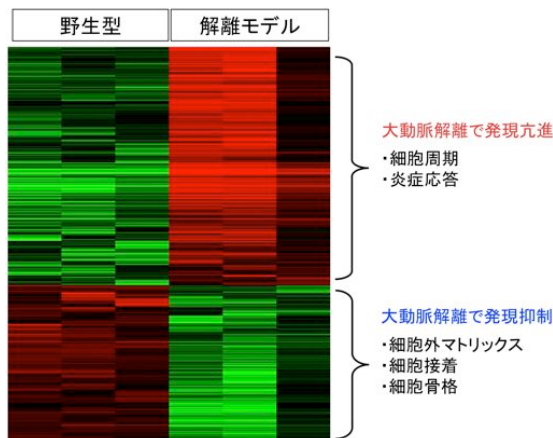
成果 (3) Na 過剰は大動脈解離病変長を増悪させ、それは IL-17 遺伝子除去により抑制された。

下図の通り、Na 過剰は野生型マウスにおいて大動脈解離病変長を増悪させ、IL-17 ノックアウトマウスではその増悪が抑制された。つまりピオグリタゾンによる Na 貯留が大動脈解離増悪に関与している可能性が示唆された。



成果(4) マウスモデルでは大動脈解離発症前に炎症関連遺伝子の発現亢進と、細胞外マトリックス関連遺伝子発現抑制が起こる。

大動脈解離モデル作成後、解離発症前の大動脈を用いてDNA マイクロアレイを行ったところ、炎症関連遺伝子の発現亢進と、細胞外マトリックス関連遺伝子発現抑制が起こっていた。これは、過去に報告されているヒト大動脈解離組織での発現変動と極めて類似していた。また、IL-17 は細胞外マトリックス代謝を抑制していた。



まとめ

これらの成果から、大動脈解離増悪させるメカニズムとして、Na 貯留と IL-17 経路、そして ECM 代謝が関連している可能性が示唆された。

これまでピオグリタゾンと IL-17 の関与は報告されておらず、今後はピオグリタゾンによる大動脈解離増悪のメカニズムにおける IL-17 と ECM 代謝の関与を検討すべく研究を継続していく。

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 1 件)

① Kimura T, Shiraiishi K, Furusho A, Ito S, Hirakata S, Nishida N, Yoshimura K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Ikeda Y, Miyamoto T, Ueno T, Hamano K, Hiroe M, Aonuma K, Matsuzaki M, Imaizumi T, Aoki H. Tenascin C protects aorta from acute dissection in mice

Scientific Reports 4, Article number:4051 2014

doi: 10.1038/srep04051

[学会発表] (計 19 件)

① Excessive sodium intake worsens aortic dissection via IL-17 Pathway

Norifumi Nishida, Hiroki Aoki, Satoko Ohno, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Saki Hirakata, Makiko Hayashi, Sohei Ito, Hideo Yasukawa,

Yoshihiro Fukumoto (Rapid fire abstract, oral presentation)

European Society of Cardiology 2015 Congress 2015.8.30 London(the United Kingdom)

② Excessive Sodium Intake Exacerbates Aortic Dissection through IL-17 Pathway

西田憲史、青木浩樹、大野聡子、西原通秀、古荘文、平方佐季、林真貴子、伊東壮平、安川秀雄、福本義弘

第 79 回日本循環器学会学術総会 2015.4.26 グランフロント大阪(大阪府大阪市)

③ 塩分過剰摂取は IL-17 経路を介して大動脈解離を増悪させる

西田憲史、青木浩樹、大野聡子、西原通秀、古荘文、平方佐季、林真貴子、伊東壮平、安川秀雄、福本義弘

第 44 回日本心臓血管作動物質学会 2015.2.6 高松センタービル(香川県高松市)

④ Excessive Sodium Intake Exacerbates Acute Aortic Dissection through Proinflammatory IL-17 Pathway

Norifumi Nishida, Hiroki Aoki, Satoko Ohno, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Saki Hirakata, Makiko Hayashi, Sohei Ito, Hideo Yasukawa, Yoshihiro Fukumoto

第 31 回国際心臓研究学会日本支部会 2014.11.29 ウィンク愛知(愛知県名古屋)

⑤ Protective role of STAT3 in vascular smooth muscle cells during the development of acute aortic dissection

Saki Hirakata, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Satoko Ohno, Aya Furusho, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Yoshihiro Fukumoto

American Heart Association Scientific sessions 2014/ 2014.11.19. Chicago(United States of America)

⑥ A Common Gene Network Governs The Cellular Phenotypes in Acute Aortic Dissection
Satoko Ohno, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Hideo Yasukawa, Yoshihiro Fukumoto
American Heart Association Scientific sessions 2014/ 2014.11.17. Chicago(United States of America)

⑦ Molecular determinant of the development of acute aortic dissection

Satoko Ohno, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Aya Furusho, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Yoshihiro Fukumoto:

European Society Of Cardiology 2014 Congress 2014.09.02. Barcelona(Spain)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西田 憲史 (NISHIDA Norifumi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：50624508

(2) 研究分担者 なし

()

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし

()

研究者番号：