

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462106

研究課題名(和文) 腹部大動脈瘤におけるVasohibinの分子機構の解明

研究課題名(英文) Effect and molecular mechanism of Vasohibin on development of abdominal aortic aneurysm

研究代表者

内田 治仁 (UCHIDA, HARUHITO)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：00550857

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)：腹部大動脈瘤の発症・進展におけるVasohibin-1の果たす役割について検討を行った。我々はオスのVasohibin-1ヘテロノックアウトマウスに対してアンジオテンシンII(1,000ng/kg/min)を4週間持続投与し、腹部大動脈瘤への影響を検討した。当初の予定に反して、Vasohibin-1ヘテロノックアウトマウスでは腹部大動脈瘤の発症が野生型と変わらなかった。組織中の各種プロテアーゼなどのタンパクやその活性のレベルも検討したが、両群間で差を認めなかった。Vasohibin-1は腹部大動脈瘤の発症・進展に対して大きな影響を与えない可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The role of Vasohibin-1 on development of Angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm was examined. Angiotensin II of 1,000ng/kg/min was infused into male Vasohibin-1 + /- mice via osmotic mini-pump for 4 weeks, then abdominal aortic aneurysm was evaluated. Contrary to our expectation, hetero-knock out of Vasohibin-1 had minor effect on abdominal aortic aneurysm formation in comparison to control mice. In addition, no difference was observed between groups regarding several protease activities. This result implies that Vasohibin-1 plays little role on development of abdominal aortic aneurysm.

研究分野：脈管学、大動脈瘤

キーワード：腹部大動脈瘤 バソヒビン1

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、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 renin-angiotensin system 抑制薬に予防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、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、大動脈瘤壁での脆弱な新生血管などが認められる。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や、動脈硬化を同時に発症しかつ大動脈瘤の破裂など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。さらに、AngII モデルはヒトの疾患と同じく、瘤組織に新生血管が認められ、大動脈瘤が破裂しマウスが死に至ることもある唯一のモデルである。Vasohibin には主に 2 つのアイソフォーム(Vasohibin-1、Vasohibin-2)が知られており、このうち Vasohibin-1 は、生体内では成体の脳・心臓・腎臓で発現が確認されるとともに、胎盤や発生段階の胚、腫瘍組織において特に血管新生が盛んな箇所で強く発現しており、血管内皮細胞において発現することが確認されている。血管新生の中心的な促進因子 VEGF の刺激、あるいは FGF-2 の刺激によっても血管内皮細胞で誘導され、血管内皮細胞自らに作用して血管新生を制御する。これまでに Vasohibin-1 の血管新生制御作用により抗腫瘍効果が報告されている。これらのことから、Vasohibin が VEGF 発現を調節することで、血管新生促進あるいは抑制を調節し、その結果腹部大動脈瘤における発症・進展を制御できるのではないかと考えるに至った。

2. 研究の目的

腹部大動脈瘤の発症・進展における Vasohibin の意義について着目し、その分子機構について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

Vasohibin-1 ノックアウトマウスの腹部大動脈瘤発症・進展に対する影響の検討、

Vasohibin による血管新生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、
ここまでで得られた成果をもとに、さらに研究を進める計画を立案した。

4. 研究成果

まず、Vasohibin-1 のホモノックアウトマウスがなかなか生まれなかったことから、Vasohibin-1 が胎児期や器官形成において重要な働きをしていることが示唆された。そのため、Vasohibin-1 のヘテロノックアウトマウスを用いた実験を中心に行った。腹部大動脈瘤モデル作成のために、浸透圧ポンプを用いて AngII (1,000ng/kg/min) をマウスに 4 週間持続投与した。野生型マウスと Vasohibin-1 ヘテロノックアウトマウスの間に、血圧、体重、脂質に関して差を認めなかった。腹部大動脈瘤の形成は、Vasohibin-1 ヘテロノックアウトマウスのほうで致死率が高いという当初の予想に反して、両群間で差を認めなかった。

そこでこの検討を行う前に、組織中あるいは局所の細胞の中におけるタンパクやその活性のレベルで起こっていることを検討した。同濃度の AngII を 4 週間持続投与後の野生型および Vasohibin-1 ヘテロノックアウトマウスから、大動脈を剥離し、MMP-2 や MMP-9、uPA や uPAR の発現を Zymography やウエスタンブロットを用いて検討したところ、両群間で差を認めなかった。また、同濃度の AngII を 4 週間持続投与後の野生型および Vasohibin-1 ヘテロノックアウトマウスから腹腔内マクロファージを採取し、MMP-9、MCP-1 や IL-1 β などの炎症性サイトカイン、uPA、uPAR などの発現を比較したが、こちらも両群間で差を認めなかった。

以上のことから、Vasohibin-1 が partial に欠損した状態では、AngII 刺激存在下において、Vasohibin-1 は腹部大動脈瘤の発症・進展に対して大きな影響を与えない可能性が示唆された。

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 3 件)

Takeuchi H, Okuyama M, Uchida HA, Kakio Y, Umabayashi R, Okuyama Y, Fujii Y, Ozawa S, Yoshida M, Oshima Y, Sano S, Wada J,

Chronic Kidney Disease Is a Risk for Abdominal Aortic Aneurysm But Diabetes Mellitus Is a Protective Factor, PLoS One. 2016 Oct 20;11(10):e0164015. doi: 10.1371/journal.pone.0164015. 査読あり

Howatt DA, Balakrishnan A, Moorlegghen JJ, Muniappan L, Rateri DL, Uchida HA, Takano J, Saido T, Chishti AH, Baud L, Subramanian V, Leukocyte Calpain Deficiency Reduces AngiotensinII-induced Inflammation and Atherosclerosis but not Abdominal Aortic Aneurysms in Mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2016 May;36(5):835-45. 査読あり

Wada K, Wada Y, Uchida HA, Tsuruoka S, Effects of Lanthanum Carbonate vs. Calcium Carbonate on Vascular Stiffness and Bone Mineral Metabolism in Hemodialysis Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: Randomized Controlled Trial. Int J Nephrol Renovasc Dis. 2015 Aug 26;8:111-8 査読あり

〔学会発表〕(計 13 件)

Exogenous Vasohibin-2 Exacerbates Angiotensin II-induced Ascending Aortic Aneurysms. Okuyama M, Uchida HA, Umebayashi R, Kakio Y, Tanabe K, Sato Y, Wada J. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 2016, Omni Nashville, Nashville, TN, USA 2016 年 5 月 6 日発表

Chronic Kidney Disease Is a Risk for Abdominal Aortic Aneurysm But Diabetes Mellitus Is a Protective Factor in Japanese. Takeuchi H, Uchida HA, Okuyama M, Umebayashi R, Kakio Y, Okuyama Y, Wada J, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2016, Nashville, TN 2016 年 5 月 5 日発表

Cilnidipine Attenuated Angiotensin II-induced Abdominal Aortic Aneurysms in Apolipoprotein E-deficient Mice via Its Anti-oxidative Stress Effect. Kakio Y, Uchida HA, Umebayashi Y, Wada J, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2016, Nashville, TN

2016 年 5 月 7 日発表

The Effect of Fisetin on Lipopolysaccharide-induced Inflammation and MMP Activity in Mouse Peritoneal Macrophages, Takeuchi H, Uchida HA, Umebayashi R, Kakio Y, Okuyama Y, Wada J, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2015, San Francisco, CA, USA 2015 年 5 月 8 日発表

Cilnidipine Attenuated Angiotensin II-induced Abdominal Aortic Aneurysms in Apolipoprotein E-deficient Mice, Kakio Y, Uchida HA, Umebayashi R, Wada J, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2015, San Francisco, CA, USA 2015 年 5 月 7 日発表

Inducible Depletion of Calpain-2 Attenuates Angiotensin II-induced Abdominal Aortic Aneurysms in Male LDL Receptor Deficient Mice. Balakrishnan A, Howatt DA, Moorlegghen JJ, Uchida HA, Takano J, Saido T, Subramanian V. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 2015, San Francisco, CA, USA 2015 年 5 月 8 日発表

Leukocyte Calpain Deficiency Reduces Angiotensin II-induced Inflammation and Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Mice Howatt DA, Balakrishnan A, Moorlegghen JJ, Rateri LA, Uchida HA, Takano J, Saido T, Chishti AH, Baud L, Subramanian V. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 2015, San Francisco, CA, USA 2015 年 5 月 8 日発表

Intercellular Adhesion Molecule 1 Deficiency Attenuated Angiotensin II-induced Abdominal Aortic Aneurysms in Apolipoprotein E Deficient Mice, Uchida HA, Umebayashi R, Kakio Y, Shikata K, Makino H, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2014, Toronto, Ontario, Canada 2014 年 5 月 2 日発表

Cilostazol Attenuated Inflammation and MMPs Induced by TNF-alpha, Umebayashi R, Uchida HA, Makino H. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2014, Toronto, Ontario, Canada 2014 年 5 月 1 日発表

Vasohibin-2 は大動脈瘤モデルマウスにおいて胸部大動脈瘤を増悪させる
奥山倫弘、内田治仁、梅林亮子、垣尾勇樹、田邊克幸、藤井泰宏、大澤 晋、佐藤靖史、佐野俊二、和田 淳
第 57 回日本脈管学会総会、2016 年 10 月 14 日

腹部大動脈瘤に対して、慢性腎臓病は危険因子であり、糖尿病は防御因子である
竹内英実、内田治仁、奥山倫弘、垣尾勇樹、奥山由加、梅林亮子、藤井泰宏、大澤 晋、吉田賢司、大島 祐、佐野俊二、和田 淳
第 57 回日本脈管学会総会、2016 年 10 月 14 日

糖尿病は腹部大動脈瘤のリスクを低下させる
竹内英実、内田治仁、垣尾勇樹、奥山由加、奥山倫弘、梅林亮子、大島 祐、和田 淳
第 48 回日本動脈硬化学会総会、2016 年 7 月 14 日

ホスホジエステラーゼ III 阻害薬は cAMP-PKA 経路を介した抗炎症作用によりアンジオテンシン II による腹部大動脈瘤形成を抑制する
梅林亮子、内田治仁、垣尾勇樹、和田 淳、榎野博史
第 55 回日本脈管学会総会、2014 年 10 月 30 日

〔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

内田 治仁 (UCHIDA, Haruhito)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：00550857