

平成 30 年 6 月 24 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21244

研究課題名(和文)大動脈瘤発生のメカニズム解明による新規大動脈瘤破裂予測因子の探索

研究課題名(英文)The discovery of a new predictor of aortic aneurysm rupture

研究代表者

田爪 宏和 (Tazume, Hirokazu)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教

研究者番号：10648273

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):本研究では未だ機序が不明である腹部大動脈瘤の病態進展過程において、Angiopoietin-like protein 2(Angptl2)が果たす役割を明らかにすることで、治療標的として臨床応用へ展開することを目的としている。

本研究の結果、ニコチンがAngptl2の発現を促進し炎症性サイトカインやマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)9の発現上昇を来たすほかに、炎症に関連するmicroRNAの発現上昇を引き起こし腹部大動脈瘤形成に寄与していることを明らかにした。また大動脈瘤患者血清の解析ではAngptl2濃度と喫煙歴との相関性が示唆されており、さらなる研究が必要である。

研究成果の概要(英文):Molecular mechanism in the development of AAA has not been elucidated well. Clinical studies indicate a significant association between cigarette smoking and aortic aneurysm development, and that the duration of time smoked parallels elevated AAA risk. Our studies demonstrate that nicotine accelerates AAA progression by altering expression levels of Angptl2 and MMP-9 activity in the aneurysmal vessel wall. And some microRNAs related to inflammation were also upregulated in the aneurysmal vessel wall. Angptl2 is a potential target for use in novel prevention and treatment strategies against AAA.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：大動脈瘤 慢性炎症

1. 研究開始当初の背景

大動脈瘤は無症状のまま増大し破裂によって初めて発見されることも多いため、わが国における成人男性の主要な突然死の原因の一つとして知られている。

大動脈瘤患者数は、ライフスタイルの欧米化・長寿社会の到来に伴い年々増加する一方である。近年、血管内治療(ステントグラフト)の普及により、破裂前に発見された症例では従来の手術療法以外に、低侵襲治療も享受できるようになったが、依然として破裂による死亡症例は減少しておらず、血管内治療が成功したにも関わらず大動脈瘤径が大きくなり破裂に至る症例も少なからず報告されている。

また破裂前に診断がついた場合でも、大動脈瘤径が小さいものについては現在のガイドラインでは血管内治療も外科的手術も適応とされず定期的な検査を行うことが推奨されている。これは破裂に対する精神的な恐怖、度重なるCTによる被曝に加え、諸検査を行うための医療費の面からも問題である。

現在、モデル動物を用いた解析や、ヒト大動脈瘤組織サンプルを用いた網羅的遺伝子発現解析、ARB投与の臨床試験などが盛んに行われているところであるが、残念ながら臨床現場で使用できるような成果は非常に少ない。

大動脈瘤の進展に関連する血清マーカーを発見できれば、大動脈瘤患者に適切なタイミングで治療を提供できるようになるとともに、血管内治療を行った大動脈瘤の再拡大に対するフォローアップも簡便にすることができるなど、大動脈瘤治療において大きなメリットとなるとともに、新たな治療のターゲットにもなりうる。

しかし大動脈瘤の形成過程についての基礎的研究は世界的に見てもほとんど進んでいないのが現状である。

2. 研究の目的

大動脈瘤の破裂や拡大の予測が困難である背景には、そもそも大動脈瘤発生・進展・拡大についての詳細な機序が、未だ不明であるという点が大きい。

研究代表者はこれまで、肥満病態や動脈硬化における基盤病態として注目されている「慢性炎症」の重要な鍵因子であるAngiopoietin-like protein 2(Angpt12)について研究を行ってきた。

これまでに、動脈硬化疾患の中でも特に発生機序が不明で地誌的疾患である腹部大動脈瘤において、Angpt12がマクロファージを介して動脈壁における慢性炎症を増悪させることで血管壁構造の破壊や瘤拡大に寄与していることを明らかにした。

本研究の目的は、大動脈瘤患者の検体およびモデルマウスを分子生物学的手法で解析し大動脈瘤発生から拡大に至るメカニズム

をさらに詳細に解明することで、Angpt12を大動脈瘤径拡大あるいは破裂の治療標的として臨床応用へ展開するための研究基盤を確立することである。

3. 研究の方法

(1) 腹部大動脈瘤モデルマウスを用いた腹部大動脈瘤形成過程における血管壁におけるAngpt12および炎症性サイトカイン遺伝子の経時的発現変化とmicroRNA発現変化との解析

これまで不明であったヒト大動脈瘤患者におけるAngpt12の発現上昇の機序として喫煙を介したmicroRNAの発現が関与している可能性が強く示唆されたため、ニコチン投与による大動脈瘤モデルにおいてその解析を行なった。ニコチン投与開始から経時的に大動脈を採取し、Angpt12・MMP-9・MMP-2および他の炎症関連サイトカイン遺伝子の発現変化をリアルタイムPCR法、ウェスタンブロット法およびザイモグラフィにより解析するとともに、microRNA(miRNA)の発現変化についてリアルタイムPCR法にて解析した。

(2) 腹部大動脈瘤患者の大動脈血管壁におけるmiRNAの発現解析ならびにAngpt12発現との関連性についての解析

患者血清中のAngpt12濃度と局所にて発現上昇しているmiRNAとの関連性の解析

倫理委員会の許可のもと患者からの文書での同意を得て、腹部大動脈瘤患者の血液および大動脈瘤壁の一部を採取した。

腹部大動脈瘤患者の血管壁におけるAngpt12および炎症性サイトカイン遺伝子発現に加え、炎症性サイトカインやマクロファージと関連のあるmiRNAの発現を解析し、これらの相関について解析を行った。

また患者血清中のAngpt12濃度と大動脈瘤径や喫煙歴・高血圧症の有無などの背景因子との相関性について解析をおこなった。

さらに炎症性サイトカインやマクロファージの発現と関連があるとされているmiRNAについて患者血清中の濃度を測定し解析を行なった。

4. 研究成果

疫学的に腹部大動脈瘤の病態進展・増悪に悪影響を及ぼすとされている「喫煙」について、ニコチンを介してAngpt12の発現上昇を引き起こすとともに炎症性サイトカインやMMPの発現上昇のみならず炎症に関連するmiRNAの発現も上昇させており、喫煙患者においてこれらの因子が血管壁の慢性炎症を持続させることで大動脈瘤形成につながることを明らかにすることができた。

具体的には、野生型マウスに対してニコチン投与による腹部大動脈瘤モデルマウスをニコチン投与開始から経時的に解析したと

ころ、コントロール群に比べ、ニコチン投与群において大動脈血管壁においてはマクロファージの発現に関連するとされる miRNA の発現上昇を認め、Angpt12 の発現上昇とも正の相関を示した。

またニコチン投与群においては Angpt12 発現上昇に加え、炎症性サイトカインおよびマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の発現上昇と活性の上昇を来たしていた。

さらに腹部大動脈瘤患者の血管壁を用いた解析においても、大動脈瘤血管壁においてマクロファージの発現および炎症に関連するとされる miRNA の発現上昇を認めるとともに、Angpt12 の発現、炎症性サイトカインおよびマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の発現上昇と活性の上昇を来たしていた。

一方、Angpt12 欠損マウスを用いてニコチン投与による腹部大動脈瘤を作成したところ、炎症性サイトカインの発現が抑制され腹部大動脈瘤形成が抑制されたものの、miRNA の発現には野生型マウスとの間で差を認めなかった。

血管壁に浸潤したマクロファージの分泌する Angpt12 が、炎症性サイトカインの分泌およびマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) のうち特に MMP-9 を介して腹部大動脈瘤病態形成に寄与していること、Angpt12 発現上昇には「喫煙」によるニコチンが引き金の一つとなりうることを明らかにしてきたが、Angpt12 は miRNA の発現には影響しておらず、miRNA が Angpt12 発現に関与している可能性が考えられる。

現在、miRNA の発現を抑制させることで Angpt12 の発現や大動脈瘤形成に影響を及ぼすかについて検討を進めており、引き続き研究を進めることとしている。

また大動脈瘤患者血清中の Angpt12 濃度と喫煙歴・miRNA 発現との関連性については、検体数の関係から本研究期間では統計学的有意差を得るまでには至らなかったが、相関を示唆する傾向が得られてきており、今後の研究において引き続き解析を進めることとしている。

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 3 件)

Tian Z, Miyata K, Morinaga J, Horiguchi H, Kadomatsu T, Endo M, Zhao J, Zhu S, Sugizaki T, Sato M, Terada K, Okumura T, Murohara T & Oike Y.

Circulating ANGPTL2 levels increase in humans and mice exhibiting cardiac dysfunction.

Circ J 82:437-447, 2018 (査読あり)

DOI: 10.1253/circj.CJ-17-0327

Oike Y, Tian Z, Miyata K, Morinaga J, Endo M & Kadomatsu T.

ANGPTL2: a new causal player in accelerating heart disease development in the aging.

Circ J 81:1379-1385, 2017 (査読あり)

Tian Z, Miyata K, Kadomatsu T, Horiguchi H, Fukushima H, Tohyama S, Ujihara Y, Okumura T, Yamaguchi S, Zhao J, Endo M, Morinaga J, Sato M, Sugizaki T, Zhu S, Terada K, Sakaguchi H, Komohara Y, Takeya M, Takeda N, Araki K, Manabe I, Fukuda K, Otsu K, Wada J, Murohara T, Mohri S, Yamashita J, Sano M & Oike Y.

ANGPTL2 activity in cardiac pathologies accelerates heart failure by perturbing cardiac function and energy metabolism.

Nat Commun 7:13016, 2016 (査読あり)

DOI: 10.1038/ncomms13016

[学会発表](計 0 件)

[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

熊本大学大学院 分子遺伝学分野

<http://www.kumamoto-u-molgene.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田爪 宏和 (Tazume, Hirokazu)
熊本大学・医学部附属病院 心臓血管外科・助教
研究者番号：10648273

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

尾池 雄一 (Oike, Yuichi)
熊本大学大学院・生命科学研究部・分子遺伝学分野・教授
研究者番号： 90312321

宮田 敬士 (Miyata, Keishi)
熊本大学大学院・生命科学研究部・免疫アレルギー血管病態学寄附講座・特任准教授
研究者番号： 50398228

田 哲 (Tian, Zhe)
熊本大学大学院・生命科学研究部・分子遺伝学分野・研究員
(日本学術振興会 外国人特別研究員)
研究者番号： 80723890

福井 寿啓 (Fukui, Toshihiro)
熊本大学大学院・生命科学研究部・心臓血管外科学・教授
研究者番号： 50445045

川筋 道雄 (Kawasuji, Michio)
熊本大学大学院・生命科学研究部・心臓血管外科学・前教授
研究者番号： 40135067

(4) 研究協力者

堀尾 英治 (Horio, Eiji)