

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：13802  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2017～2019  
課題番号：17K10751  
研究課題名(和文) vasa vasorumの血流変動が腹部大動脈瘤の病態に及ぼす影響

研究課題名(英文) Vasa Vasorum in Abdominal Aortic Aneurysm

研究代表者

田中 宏樹 (TANAKA, Hiroki)

浜松医科大学・医学部・特任研究員

研究者番号：50456563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：申請者らは、大動脈壁の栄養血管であるVasa Vasorum (VV)の変性が、血管壁内の血流異常を引き起こし、腹部大動脈瘤(AAA)の発症・進展に関与することを示唆してきた。本研究では、“生きたまま”組織深層の観察が可能な2光子顕微鏡システムを利用し、マウスAAAの瘤壁内におけるVVの血流と、その変動に伴い病態に直結する炎症細胞や低酸素環境と思われる変化を可視化することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管壁を栄養する微細な血流が腹部大動脈瘤(AAA)の発症や進展に関与することをより強く立証した。現況ではAAAの進展を制御する薬物療法はないが、微細な組織の血流改善が薬物の開発(あるいは治療適応の拡大)が新たな治療ターゲットになる。

研究成果の概要(英文)：Abdominal aortic aneurysm (AAA) is an inflammatory cardiovascular disease common among the elderly,<sup>1, 2</sup> and whose pathogenesis is not fully understood. We sought to determine whether hypoperfusion of the adventitial VV could develop AAA. In this study, we can observed inflammatory cell and hypoxia in AAA tissue by two-photon microscopy.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：腹部大動脈瘤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

申請者らは、患者検体の解析から大動脈壁の栄養血管である Vasa Vasorum (VV) の変性が、血管壁内の血流異常を引き起こし、腹部大動脈瘤(AAA)の発症・進展に關与することを示唆し、これを基盤に動物モデルを作成して仮説の正当性を証明してきた。(Tanaka H, 2013,2015 PLoS ONE)しかし、これまでの定点観察や 2 次元の組織解析では、VV の血流変動が大動脈壁の組織変化を惹起する機構の解明には至っていない。

#### 2. 研究の目的

本研究では、“生きたまま”組織深層の観察が可能な 2 光子顕微鏡システムを利用し、当該モデルマウス AAA の瘤壁内における VV の血流と、その変動に伴い病態に直結する炎症細胞の動態や低酸素環境の広がりを可視化し、VV の血流変動が、病態の主因である炎症反応をどのように惹起し、これを継続、増幅するか解析する。

#### 3. 研究の方法

臓器・組織内の数 100 $\mu$ m 深層まで観察可能な in vivo イメージングシステムである 2 光子顕微鏡を利用して、マウス腹部大動脈(瘤)の再現性のある観察プロトコルを確立する。(平成 29 年度)そして、従来のイメージングシステムでは不可能であった大動脈壁内の VV 血流を定量解析し、その変動に伴う AAA の病態に能動的な関与をする炎症細胞の動態や低酸素環境の広がりを可視化する。(平成 30 年度以降)当施設に、二光子顕微鏡は設置され常時利用している。専門スタッフの常駐によりメンテナンスされている。研究計画を遂行するための研究体制は、2008 年より共同で研究チームが継続し、さらにバイオイメージングや血管生物学に熟知した協力者が加わり、環境は整備されている。

#### 4. 研究成果

##### 概要

本研究では、マウス大動脈瘤モデルを利用し、腹腔内、後腹膜臓器内の組織である大動脈壁の観察手法を比較的安定した状況で観察できる手法を確立することができた。

血流、低血流、再灌流など血流動態は常時変動し、その影響を受け組織変化することを外科的な処置や血管収縮・拡張薬の投与による VV 血流の操作によって、変化する様子を観察することができたが、再現性と定量化に難渋し今後の課題となった。

血管壁を栄養する微細な血流が AAA の発症や進展に關与することをより強く立証した。現況では AAA の進展を制御する薬物療法はないが、微細な組織の血流改善が薬物の開発(あるいは治療適応の拡大)が新たな治療ターゲットになる。

まず、2 光子顕微鏡による腹部大動脈(瘤)を観察する手法の確立に、取り組んだ。

2 光子顕微鏡は、臓器・組織内の数 100 $\mu$ m 深層まで、血流や細胞動態を生きたまま観察することが可能な in vivo イメージングである。(Nishimura S, 2012 Blood)しかし、これまではマウス大動脈や精巣動脈など体表に近い末梢血管を主体とした観察プロトコルしか構築されていない。本研究では、マウス大動脈瘤モデルを利用し、腹腔内、後腹膜臓器内の組織である大動脈壁の観察手法を確立することを目指した。観察時の体位や血圧、呼吸等による影響を受けるため、安定した再現性のあるプロトコルを確立した。

次に、VV 血流の定量解析と、その血流変化に伴う組織変化を可視化に取り組んだ。

大動脈(瘤)壁の VV 血流を可視化し、前述したシステムに装備してあるソフトウェア(NIS-Elements, Nikon 製)を利用し、大動脈組織内の因子である下記の 3 点について定量解析する。

1. 血流量・血流方向(動脈流、静脈流、リンパ流の 4 次元解析)
2. 炎症細胞の動態(炎症細胞の集積機序)
3. 低酸素環境の広がり(血流不足と細胞増加による影響)

従来のイメージングシステムでは、大動脈壁内の VV 血流や細胞動態は不可能である。また、病理組織解析や、その他の分子生物学の解析手法でも明らかにすることは困難な瘤壁内で起こっている現象を明らかにしようとした。

1. 血流は生きたままの循環動態で観察しなければ、定量は困難である。また、血流の方向性は組織内の流入と流出バランスを測るために重要である。さらに、ドレナージ機構としてリンパ流は欠かせない項目である。(血管とリンパ管の判定は既に明らかにしている)

動脈、静脈、そして、リンパ管の違いは比較的容易に同定し、区分も可能になり、また部位により同時に可視化することもできた。

2. 炎症細胞の集積は、血流に影響しているのか、あるいは周囲組織からの浸潤によるものが主体であるのか、組織の低酸素がどのように関わるのか?興味深い問題であるが明らかにされていない。

細胞の分類を詳細に区分することはできなかったが、VV 血流の低下が明らかに低酸素環境の変化を導いていることは可視化できた。しかしながら、再現性と定量化の方法に難渋し、今後の大きな課題となった。

大動脈中膜の炎症による弾性線維構造の破綻が病態の主因であると考えられているが、炎症の起因と継続・増幅の機構は不明である。申請者は、炎症の起因にも持続にも、W 血流の影響が関わることに着目し、AAA は長年かけて発症し進展する疾患であるため、危険因子である加齢や喫煙などによる小さな損傷が蓄積し、画像診断上に顕在化したものが瘤であると考えてきた。その些細な損傷は、微小血管である W には大きな損傷であり、本研究の W 血流の *in vivo* イメージングによって、AAA の炎症を機転とした病態に密接に関与することを、より強く立証することができた。

W 血流の変化は可視化されるだけでなく、血流の方向、すなわち動静脈の区別、ドレナージ機構の変化(TanakaH,2014 PLoS ONE)も見出され、大動脈壁内の微小循環動態や病的意義が明らかにされつつある。これまで、臨床における AAA の病状の進展評価、すなわち破裂を予防する外科手術のタイミングは、血管径や形状のみに委ねられてきた。しかし、その基準にそぐわない症例は少なくない。既に、臨床の超音波技術は血管壁内の血流をある程度可視化できるが、より些細な血管壁内の循環動態の変化を見出す技術が確立したとき、W 血流解析は、血管壁の性状(質的)評価の一項目として有用な因子となり、手術適応の補助因子になりうると期待は膨らんだ。

また、現況では AAA の進展を制御する薬物療法はないが、W 血流を制御しうる薬物の開発(あるいは治療適応の拡大)に、申請者らの結果は大きく貢献するだろう。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tanaka Hiroki, Inuzuka Kazunori, Iida Yasunori, Shimizu Hideyuki, Unno Naoki, Urano Tetsumei	4. 巻 67
2. 論文標題 Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Is Associated with Degenerating Adipocytes in Abdominal Aortic Aneurysm	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Oleo Science	6. 最初と最後の頁 1355 ~ 1360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5650/jos.ess18131	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka Hiroki	4. 巻 19
2. 論文標題 Problems and Perspectives of Abdominal Aortic Aneurysm Research	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Drug Targets	6. 最初と最後の頁 1227 ~ 1227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/138945011911180720122330	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kugo Hirona, Tanaka Hiroki, Moriyama Tatsuya, Zaima Nobuhiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Pathological Implication of Adipocytes in AAA Development and the Rupture	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Vascular Diseases	6. 最初と最後の頁 159 ~ 168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3400/avd.ra.17-00130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka Hiroki, Unno Naoki, Suzuki Yuko, Sano Hideto, Yata Tatsuro, Urano Tetsumei	4. 巻 19
2. 論文標題 Hypoperfusion of the Aortic Wall Secondary to Degeneration of Adventitial Vasa Vasorum Causes Abdominal Aortic Aneurysms	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Drug Targets	6. 最初と最後の頁 1327 ~ 1332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1389450119666180122154409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka H, Iida Y, Iwaki T, Suzuki Y, Sano H, Miyajima C, Zaima N, Sasaki T, Sumioka A, Hakamata S, Shimizu H, Umemura K, Urano T.	4. 巻 48
2. 論文標題 Elevated Plasma Levels of LDL Cholesterol Promote Dissecting Thoracic Aortic Aneurysms in Angiotensin II-Induced Mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ann Vasc Surg.	6. 最初と最後の頁 204-213.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.avsg.2017.10.006. Epub 2017 Dec 21.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iida Y, Tanaka H, Sano H, Suzuki Y, Shimizu H, Urano T.	4. 巻 48
2. 論文標題 Ectopic Expression of PCSK9 by Smooth Muscle Cells Contributes to Aortic Dissection.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ann Vasc Surg.	6. 最初と最後の頁 195-203.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.avsg.2017.10.005.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 優子 (SUZUKI Yuko) (20345812)	浜松医科大学・医学部・准教授  (13802)	
研究分担者	浦野 哲盟 (URANO Tetsumei) (50193967)	浜松医科大学・医学部・教授  (13802)	
研究分担者	佐野 秀人 (SANO Hideto) (80623842)	浜松医科大学・医学部・助教  (13802)	