

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11583

研究課題名(和文) 腹部大動脈瘤の発症機構の解明と予防・治療法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of the onset mechanism of abdominal aortic aneurysm and development of preventive and therapeutic methods

研究代表者

田中 照佳 (Tanaka, Teruyoshi)

近畿大学・農学部・講師

研究者番号：10811664

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、破骨細胞を活性化した時の腹部大動脈瘤病変を観察、食品成分による腹部大動脈瘤予防効果の作用機構の解明、を行った。

では、卵巣摘出マウスと卵巣摘出擬似手術マウスにおいてCaP04誘発性の腹部大動脈瘤モデルを作製した。その結果、卵巣摘出マウスは卵巣摘出擬似手術マウスと比較し、破骨細胞が活性化され、腹部大動脈瘤の発症を促進させた。一方、では、既に腹部大動脈瘤の予防食品として報告した葛(クズ、Pueraria lobata) 蔓抽出物が破骨細胞の分化を抑制する有効作用量やクズの主要イソフラボンであるプエラリンのマウス体内への移行形態を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腹部大動脈瘤(AAA)は、薄い石灰化病変を有し、腹部大動脈の進行的な拡張を主病変とする疾患である。AAAの発症機構は不明な点が多く、治療法として外科的治療法しかないのが現状である。申請者らのグループは、AAA病変にマクロファージから分化した破骨細胞が存在することを世界で初めて発見した。したがって、AAAの発症機構の解明や予防・治療薬の開発を目指して「破骨細胞」に着目した研究をさらに進める必要がある。本研究の結果は、破骨細胞は動脈瘤の発症に重要な役割を果たしていることを示唆しており、AAAの発症機構の解明や予防・治療薬の開発を目指すための重要な知見になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, Experiments 1 and 2 were performed.

In Experiment 1, we observed abdominal aortic aneurysm (AAA) lesions when osteoclasts were activated. CaP04-induced abdominal aortic aneurysm models were produced in ovariectomized (OVX) mice and sham-operated mice. As a result, osteoclasts were activated and the development of AAA was activated in OVX mice compared with sham mice.

On the other hand, in Experiment 2, the action mechanism of the preventive effect of food components on abdominal aortic aneurysms was clarified. We demonstrated the effective dose of kudzu (Pueraria lobata) vine extract, which has already been reported as a preventive food for abdominal aortic aneurysm, to suppress the differentiation of osteoclasts. In addition, we investigated the translocation form of puerarin, a major isoflavone in kudzu, into the body of mice.

研究分野：食品機能学

キーワード：腹部大動脈瘤 破骨細胞 卵巣摘出 クズ プエラリン

1. 研究開始当初の背景

近年、動脈における石灰化は骨組織と同様に細胞外基質の形成と溶解のバランスによりコントロールされているとする「Balanced Mineralization」という概念が提唱されている。骨形成は主に骨芽細胞による細胞外マトリックス形成により、骨溶解は破骨細胞による細胞外マトリックスの溶解により制御されている。狭窄/末梢閉塞性動脈疾患は、動脈の石灰化により内腔が狭くなり循環障害をきたす疾患である。狭窄性疾患における顕著な石灰化と異なり、動脈瘤壁においてはより薄い層の石灰化病変が見られることが多い。そこで、石灰化した動脈において、何らかの要因で破骨細胞活性が優位となると、細胞外マトリックスの溶解により動脈壁が脆弱化することで動脈瘤へ進展し、逆に骨芽細胞優位となると骨形成促進による石灰化及び細胞外マトリックス形成により動脈狭窄に至るとの仮説を立て、研究を進めている。

腹部大動脈瘤は、薄い石灰化病変を有し、腹部大動脈の進行的な拡張を主病変とする疾患である。腹部大動脈瘤の発症機構は不明な点が多く、破裂を防ぐ方法として外科的治療法しかないのが現状であるため、その予防法の確立が急務である。

2. 研究の目的

申請者らは、腹部大動脈瘤病変にマクロファージから分化した破骨細胞が存在することを世界で初めて発見しており、申請者らのグループを除いて「腹部大動脈瘤における破骨細胞」の研究を行っている研究者は世界にいない。腹部大動脈瘤の特徴として、脆弱化した血管構造とタンパク質分解酵素(マトリックスメタロプロテアーゼ)の過剰発現の二つがある。破骨細胞は未分化のマクロファージに比べタンパク質分解酵素の発現が非常に高いことや、動脈瘤病変の破骨細胞周辺でタンパク質分解酵素の活性が認められたことから、腹部大動脈瘤中に存在する破骨細胞が血管の細胞外マトリックスを破壊していると推測される。また、既に申請者らは、破骨細胞の分化抑制剤の投与は腹部大動脈瘤の形成を抑制することを報告した。このように「破骨細胞」は動脈瘤の発症に重要な役割を果たしている可能性があり、腹部大動脈瘤の発症機構の解明や予防・治療薬の開発を目指して「破骨細胞」に着目した研究をさらに進める必要がある。

また、申請者らが腹部大動脈瘤の予防食品として着目しているプエラリンは、葛(クズ、*Pueraria lobata*)中に存在するクズ特有のイソフラボンである。クズは、繁殖力が強く雑草駆除の対象となっており、その利用は根に限られている。未利用クズ蔓抽出物およびプエラリンは、申請者らが世界に先駆けて骨粗鬆症予防効果・糖尿病予防効果等の新規生理機能を報告した食品素材である。したがって、プエラリンによる破骨細胞の分化抑制効果の作用機構を明らかにすることは、腹部大動脈瘤の治療・予防薬として期待されるだけでなく、未利用クズ蔓およびプエラリンを機能性食品として利用するうえで非常に重要である。

3. 研究の方法

i) 腹部大動脈瘤における破骨細胞の解析

女性は65歳以上になると腹部大動脈瘤に発症する可能性が高いことが知られているが、これは閉経によるエストロゲン欠乏により破骨細胞が活性化されることが原因である可能性がある。そこで、卵巣摘出マウスと卵巣摘出擬似手術マウスにおいて腹部大動脈瘤を誘発し、卵巣摘出マウスは卵巣摘出擬似手術マウスと比較し、破骨細胞が活性化され、腹部大動脈瘤が発症しやすいのかを検証した。解析には、CaPO₄誘導性腹部大動脈瘤モデルマウスおよび解離性腹部大動脈瘤モデルマウスを用いた。

ii) C-グリコシド型イソフラボン・プエラリンの破骨細胞分化抑制効果の解明

申請者らは、プエラリンは破骨細胞の分化を抑制し、腹部大動脈瘤を予防することを報告したが、詳細な作用機構は不明である。そこで、本研究では培養細胞を用いて、プエラリンによる破骨細胞の分化抑制効果の作用機構を試みた。次世代シーケンサーを用いたRNA-Seqによりプエラリンを添加した破骨細胞において発現変動する遺伝子を網羅的に解析した。

4. 研究成果

i) 腹部大動脈瘤における破骨細胞の解析

卵巣摘出マウスと卵巣摘出擬似手術マウスにおいてCaPO₄誘発性の腹部大動脈瘤モデルを作製した。その結果、卵巣摘出マウスは卵巣摘出擬似手術マウスと比較し、破骨細胞が活性化され、腹部大動脈瘤の発症を促進させた。また、エストラジオールの投与によって破骨細胞形成は抑制され、動脈瘤の形成は阻害された。これらのデータは、「破骨細胞」は動脈瘤の発症に重要な役割を果たしていることを示唆しており、腹部大動脈瘤の発症機構の解明や予防・治療薬の開発を目指すための重要な知見になると考えられる。

ii) C-グリコシド型イソフラボン・プエラリンの破骨細胞分化抑制効果の解明

次世代シーケンサーを用い、RNA-Seqによりプエラリンを添加した破骨細胞において発現変動する遺伝子を網羅的に解析した結果、脂質代謝関連の遺伝子発現に変動がみられた。また、食品安全委員会の大豆イソフラボンの一日の摂取基準よりも少ない用量でマウスの破骨細胞分化を

抑制することが認められた。さらに、プエラリンのマウス体内への移行形態および移行量を HPLC や LC-MS を用いて検討した。その結果、プエラリンを投与したマウス血中において、プエラリンの硫酸抱合体やグルクロン酸抱合体など一部が抱合体として検出されたが、その主要存在形態は intact なプエラリンであった。したがって、マウス体内でほとんど代謝を受けず血中へ移行することが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Teruyoshi Tanaka, Kazuko Iwamoto, Maki Wada, Erika Yano, Toshiyuki Suzuki, Nobuhisa Kawaguchi, Norifumi Shirasaka, Tatsuya Moriyama, Yoshimi Homma	4. 巻 28
2. 論文標題 Dietary syringic acid reduces fat mass in an ovariectomy-induced mouse model of obesity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Menopause	6. 最初と最後の頁 1340-1350
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/GME.0000000000001853	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 Teruyoshi Tanaka, Hanjun Tang, Kazuya Umehara, Tatsuya Moriyama, Yukio Kawamura	4. 巻 29
2. 論文標題 Kudzu (Pueraria lobata) vine isoflavones, at a dose lower than the recommended daily allowance in Japan, prevents bone loss in ovariectomized mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Food Science and Technology Research	6. 最初と最後の頁 47-55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3136/fstr.fstr-d-22-00103	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3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 和田真希, 田中照佳, 鈴木俊幸, 川口信久, 白坂憲章, 財満信宏, 森山達哉, 本間好
2. 発表標題 シリンガ酸による閉経後肥満予防効果の作用機構の検討
3. 学会等名 第75回 日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中照佳, 大沼広直, 鈴木俊幸, 鳴原 隆, 木村栄一, 本間 好
2. 発表標題 きのご菌床培地中のシリンガ酸およびバニリン酸含量の定量と破骨細胞の分化抑制効果
3. 学会等名 日本食品科学工学会 第68回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Teruyoshi Tanaka
2. 発表標題 Role of osteoclasts in abdominal aortic aneurysm and the prevention by food components
3. 学会等名 The Korean Society of Food Science and Nutrition (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------