

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 13 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390302

研究課題名(和文)次世代大動脈瘤診断治療法の開発：細胞外マトリクス分子による病態制御機構の解明

研究課題名(英文)Role of extracellular matrix proteins in abdominal aortic aneurysm

研究代表者

吉村 耕一 (YOSHIMURA, Koichi)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授(特命)

研究者番号：00322248

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：大動脈瘤の主病態は、慢性炎症により引き起される細胞外マトリクス代謝異常と考えられている。本研究では、細胞外マトリクス蛋白であるデコリンとペリオスチンの大動脈瘤病態における役割を解析した。ヒト大動脈組織、培養血管平滑筋細胞ならびにマウスモデルにおける検討から、正常大動脈の外膜に発現するデコリンは瘤形成を防止する役割を有していると考えられた。一方、大動脈瘤組織で発現が増加するペリオスチンは、炎症を増幅して瘤形成を促進する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Abdominal aortic aneurysm (AAA) is characterized by chronic inflammation, which contributes to the pathological remodeling of extracellular matrix. This study investigated the role of extracellular matrix proteins, decorin and periostin, in AAA pathogenesis. We found significant increases in periostin levels in human AAA walls. Decorin was localized in the adventitia of normal aorta. In cultured vascular smooth muscle cells, decorin inhibited MMP-9 secretion. Vascular smooth muscle cells subjected to cyclic strains showed significant increases in periostin and MCP-1 levels. Moreover, in mice, local application of periostin led to MCP-1 upregulation in the aortic walls, which resulted in marked cellular infiltration. But, local application of decorin prevented the development of AAA in mice. Our findings have suggested that adventitial decorin in normal aorta protects against the development of AAA, while periostin leads to inflammation through mechanotransduction mechanism in AAA.

研究分野：血管外科学、血管病態学

キーワード：大動脈瘤

1. 研究開始当初の背景

(1) 大動脈瘤は、破裂により突然死に至る重要な血管外科疾患であり、高齢者男性死亡原因の上位にランクされている。ステントグラフト治療を含む外科手術成績の向上にもかかわらず、依然として治療に難渋する症例は少なくない。さらに、外科手術患者数の約10倍に上るとされる小径瘤患者に有効な治療手段が無いのも未解決の課題である。大動脈瘤克服のためには分子病態を解明し、それに基づいた次世代の診断・治療法を確立することが急務である。

(2) 大動脈瘤は不可逆的組織破壊病変であり薬物治療は不可能と信じられていたが、研究代表者はストレス応答分子 JNK の阻害療法により大動脈瘤病態の制御と退縮治療が可能なることを世界で初めて実証した (Yoshimura, Nature Med 2005, 特開2007-51086)。さらに近年、大動脈瘤の基礎的病態研究の報告が増え、薬物療法開発の気運が高まってきているが、未だ実用化には至っていない。

(3) 研究代表者は、ヒト大動脈瘤組織培養実験における網羅的解析から、JNK 阻害剤添加後の培養上清中で増加する蛋白としてデコリン、減少する蛋白としてペリオスチンを同定した (未発表データ)。

(4) デコリンは小型ロイシンリッチプロテオグリカン、ペリオスチンはファシクリン I 関連蛋白であり、いずれも細胞機能調節に関わる細胞外マトリクス分子として知られていた。細胞遊走に関してデコリンは抑制性に、一方ペリオスチンは促進性に働くことが示唆されていた (Yan et al, J Biol Chem 2006, Seidler et al, J Mol Med 2006)。しかしながら、大動脈瘤病態における役割は不明であった。

2. 研究の目的

(1) 研究代表者は、ヒト大動脈瘤における JNK 活性化の下流でデコリンとペリオスチンの蛋白発現が制御され、その結果、大動脈瘤の疾患活動性が亢進するという仮説を独自に着想した。

(2) 本研究の目的は、細胞外マトリクス蛋白デコリンとペリオスチンによる大動脈瘤病態制御機構を分子生物学的手法により解明することである。これらを治療標的分子あるいは病態マーカー分子として活用することにより革新的薬物療法の開発を行い、実用化に繋げることを目指す。

3. 研究の方法

(1) ヒト腹部大動脈瘤組織におけるデコリンとペリオスチンの蛋白発現を解析した。瘤化していない非病変部のヒト大動脈組織を対

照として用いた。さらに、病理組織を用いてデコリン並びにペリオスチンの局在を解析した。

(2) マウス腹部大動脈周囲に高濃度塩化カルシウムを塗布し、慢性炎症による大動脈瘤モデルを誘起した (Yoshimura, Nature Med 2005, Longo, J Clin Invest 2002)。この瘤モデルの時間経過において大動脈組織中のデコリンとペリオスチンの発現変動を解析した。

(3) 大動脈瘤病態で重要なマクロファージと血管平滑筋細胞の培養細胞系を用いて、これら細胞の刺激応答におけるデコリンとペリオスチンの役割を解析した。

(4) マウス大動脈瘤モデルの発症・進展におけるデコリンとペリオスチンの役割を解析した。そのために、高濃度塩化カルシウム塗布によるマウス大動脈瘤モデルを用いて、デコリン又はペリオスチン蛋白の局所投与の効果を検討した。

4. 研究成果

(1) ヒト腹部大動脈瘤壁の主に病変活動性が高い部位で、ペリオスチンとデコリンの発現が亢進していた。また、デコリンは正常大動脈では外膜に限局して発現していた。

(2) マウス大動脈瘤モデルにおいては、病変が進展する時期に一致してペリオスチンの発現が亢進した。一方、デコリンは正常大動脈の外膜側に限局的に発現し、瘤誘発の塩化カルシウム刺激後に外膜側のデコリンが顕著に減少した。

(3) 培養血管平滑筋細胞においては、メカニカルストレス刺激によりペリオスチンの発現が亢進した。また、血管平滑筋細胞へのメカニカルストレス刺激により、ペリオスチン依存的に単球走化性因子 (MCP-1) の分泌が亢進した。一方デコリンは、炎症性刺激後の血管平滑筋細胞におけるマトリクスメタロプロテアーゼ-9 (MMP-9) 分泌を抑制したが、マクロファージにおいては逆に MMP-9 分泌を促進した。

(4) マウス大動脈瘤モデルにおいて、デコリン蛋白の局所投与は、塩化カルシウム誘導性の瘤形成を有意に抑制した。一方、ペリオスチン蛋白の局所投与は、マウス大動脈における MCP-1 発現を亢進し、著明な炎症細胞浸潤を惹起した。

(5) 正常大動脈外膜に発現するデコリンは中膜の血管平滑筋細胞に保護的に作用し瘤形成を防止する役割を有すると考えられる。ただし、瘤形成後の病変組織のマクロファージに発現するデコリンは MMP-9 分泌を促進し

瘤拡大を促進する可能性がある (Ueda et al, PLoS ONE 2015)。一方、ペリオスチンは、大動脈壁へのメカニカルストレス刺激により発現が亢進し、MCP-1 分泌を介して炎症細胞浸潤を増加し、大動脈瘤の病態を進行させる可能性がある (Yamashita et al, PLoS ONE 2013)。

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 10 件)

Yoshimura K, Nagasawa A, Kudo J, Onoda M, Morikage N, Furutani A, Aoki H, Hamano K. Inhibitory Effect of Statins on Inflammation-related Pathways in Human Abdominal Aortic Aneurysm Tissue. *Int. J. Mol. Sci.* 査読有、16(5), 2015, 11213-11228
DOI: 10.3390/ijms160511213

Ueda K, Yoshimura K, Yamashita O, Harada T, Morikage N, Hamano H. Possible Dual Role of Decorin in Abdominal Aortic Aneurysm. *PLoS ONE* 査読有、10(3), 2015. e0120689
DOI: 10.1371/journal.pone.0120689

Usui F, Shirasuna K, Kimura H, Tatsumi K, Kawashima A, Karasawa T, Yoshimura K, Aoki H, Tsutsui H, Noda T, Sagara J, Taniguchi S, Takahashi M. Inflammation Activation by Mitochondrial Oxidative Stress in Macrophages Leads to the Development of Angiotensin II-induced Aortic Aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 査読有、35(1), 2015, 127-136
DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303763

Kimura T, Shiraishi 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* 査読有、4, 2014, 4051
DOI: 10.1038/srep04051

Yamashita O, Yoshimura K, Nagasawa A, Ueda K, Morikage N, Ikeda Y, Hamano K. Periostin Links Mechanical Strain to Inflammation in Abdominal Aortic Aneurysm. *PLoS ONE* 査読有、8(11), 2013. e79753
DOI: 10.1371/journal.pone.0079753

吉村 耕一、大動脈瘤と大動脈解離にお

けるストローマの役割、循環器内科、査読無、74(2)、2013、168-173

長澤 綾子、吉村 耕一、山下 修、鈴木 亮、美甘 章仁、土田 正則、濱野 公一、c-Jun N-terminal Kinase (JNK) の大動脈解離発症への関与、日本心臓血管外科学会雑誌、査読無、42(3)、2013、vi-viii

Sato M, Mikamo A, Kurazumi H, Suzuki R, Murakami M, Kobayashi T, Yoshimura K, Hamano K. Ratio of preoperative atrial natriuretic peptide to brain natriuretic peptide predicts the outcome of the maze procedure in mitral valve disease. *Journal of Cardiothoracic Surgery* 査読有、8, 2013, 32
DOI: 10.1186/1749-8090-8-32

Nagasawa A, Yoshimura K, Suzuki R, Mikamo A, Yamashita O, Ikeda Y, Tsuchida M, Hamano K. Important Role of the Angiotensin II Pathway in Producing Matrix Metalloproteinase-9 in Human Thoracic Aortic Aneurysms. *Journal of Surgical Research* 査読有、183(1), 2013, 472-477
DOI: 10.1016/j.jss.2012.12.012

Yoshimura K, Aoki H. Recent Advances in Pharmacotherapy Development for Abdominal Aortic Aneurysm. *Int. J. Vasc. Med.* 査読有、2012, 2012, 648167
DOI: 10.1155/2012/648167

[学会発表](計 14 件)

吉村 耕一、山下 修、上田 晃志郎、原田 剛佑、森景 則保、濱野 公一、大動脈瘤病態におけるメカノトランスダクション機構の解明、第 55 回日本脈管学会、2014 年 10 月 30-11 月 1 日、倉敷芸文館 (岡山県倉敷市)

上田 晃志郎、山下 修、吉村 耕一、森景 則保、濱野 公一、腹部大動脈瘤における細胞外マトリックス分子デコリンの役割、第 42 回日本血管外科学会、2014 年 5 月 21-23 日、青森市文化会館 (青森県青森市)

Ueda K, Yoshimura K, Yamashita O, Morikage N, Hamano K. Protective role of decorin in pathogenesis of abdominal aortic aneurysm. *International Vascular Biology Meeting 2014*. Apr 14-17, 2014, miyakomesse (Kyoto, Kyoto)

上田 晃志郎、山下 修、吉村 耕一、森景 則保、濱野 公一、腹部大動脈瘤における Decorin 発現の病態マーカーとして

の意義、第 113 回日本外科学会、2014 年 4 月 3-5 日、国立京都国際会館（京都府京都市）

Nagasawa A, Yoshimura K, Yamashita O, Tsuchida M, Aoki H, Hamano K. JNK Isoforms Have Opposing Roles in Development of Acute Aortic Dissection. American Heart Association Scientific Sessions 2013. Nov 16-20, 2013, Dallas, U.S.A.

山下 修、吉村 耕一、上田 晃志郎、長澤 綾子、森景 則保、濱野 公一、腹部大動脈瘤における細胞外マトリックス分子ペリオスチンの役割、第 54 回日本脈管学会、2013 年 10 月 10-12 日、ステーションコンファレンス東京（東京都千代田区）

Yamashita O, Yoshimura K, Nagasawa A, Morikage N, Hamano K. Periostin Links Mechanical Stress with Inflammatory Signal in Abdominal Aortic Aneurysm. The 8th Korea-Japan Joint Meeting for Vascular Surgery. Apr 26, 2013, Seoul, Korea.

長澤 綾子、吉村 耕一、山下 修、土田 正則、濱野 公一、JNK2 が大動脈解離発生に關与する、第 113 回日本外科学会、2013 年 4 月 11-13 日、福岡国際会議場（福岡県福岡市）

山下 修、吉村 耕一、長澤 綾子、森景 則保、濱野公一、腹部大動脈瘤における細胞外マトリックス分子ペリオスチンの役割、第 113 回日本外科学会、2013 年 4 月 11-13 日、福岡国際会議場（福岡県福岡市）

Nagasawa A, Yoshimura K, Yamashita O, Ikeda Y, Aoki H, Hamano K. Role of JNK2 in Aortic Aneurysms and Dissections、第 77 回日本循環器学会、2013 年 3 月 15-17 日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

長澤 綾子、吉村 耕一、山下 修、鈴木 亮、美甘 章仁、土田 正則、濱野 公一、c-Jun N-terminal kinase (JNK) の大動脈解離発症への關与、第 43 回日本心臓血管外科学会、2013 年 2 月 25-27 日、ホテルグランパシフィック LE DAIBA（東京都港区）

Yoshimura K. Role of Signaling Pathways in Aortic Aneurysms. 3rd International Meeting on Aortic Diseases -New insights into an old problem-. Oct 4- Oct 6, 2012. Liege, Belgium

Nagasawa A, Yoshimura K, Yamashita O, Tsuchida M, Hamano K. Angiotensin II pathway is critical for MMP-9 production in human thoracic aortic aneurysms. 3rd International Meeting on Aortic Diseases -New insights into an old problem-. Oct 4- Oct 6, 2012. Liege, Belgium

Yamashita O, Yoshimura K, Nagasawa A, Morikage N, Hamano K. Increased levels of periostin in abdominal aortic aneurysms. 3rd International Meeting on Aortic Diseases -New insights into an old problem-. Oct 4- Oct 6, 2012. Liege, Belgium

6 . 研究組織

(1)研究代表者

吉村 耕一（YOSHIMURA, Koichi）
山口大学・大学院医学系研究科・准教授（特命）
研究者番号：00322248

(2)研究分担者

荻野 均（OGINO, Hitoshi）
東京医科大学・医学部・教授
研究者番号：60393237

吉田 恭子（YOSHIDA, Kyoko）
（今中 恭子）
三重大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：00242967

青木 浩樹（AOKI, Hiroki）
久留米大学・循環器病研究所・教授
研究者番号：60322244