

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860605

研究課題名(和文) 大動脈瘤形成におけるヘパリンコファクター の臨床的意義および病態分子機構の解明

研究課題名(英文) The impact of plasma heparin cofactor II activity in patients with aortic aortic aneurysm

研究代表者

伊勢 孝之 (ISE, Takayuki)

徳島大学・大学病院・助教

研究者番号：90621649

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：大動脈瘤はしばしば破裂や解離など致死性イベントを引き起こす。HCIIは粥状硬化を含む血管リモデリング抑制因子として、大きな役割を果たしていることが考えられる。心血管病の危険因子を有する患者を対象として血漿HCII活性を測定し、大動脈瘤の有無と血中HCII活性との関係を検証することを目的とした。結果、血漿HCII活性が低いほど動脈瘤、末梢血管疾患、脳血管障害、冠血管を含めた血管障害の合併をより多く認めていることが分かった。現在、症例を増やし検討を行い、また観察期間も伸ばし大動脈瘤破裂や大動脈解離などのイベントとの相関についても検証する。

研究成果の概要(英文)：Progression of aortic aneurysms often cause fatal events such as rupture and dissection. Thrombin has a crucial role in vascular remodeling through protease-activated receptor-1 activation in cardiac fibroblasts and cardiomyocytes. As heparin cofactor II (HCII) inhibits the action of tissue thrombin in the cardiovascular system, it is possible that HCII counteracts the development of vascular remodeling. We investigated the relationships between plasma HCII activity and presence of vascular disease, including aortic aneurysm, peripheral artery disease, coronary artery disease and cerebral artery disease. Plasma HCII activity was inversely associated with morbidity of vascular disease, including aortic aneurysm, peripheral artery disease, coronary artery disease and cerebral artery disease. This finding suggests that tissue thrombin inactivation by HCII is a novel therapeutic target for vascular remodeling and atherosclerosis.

研究分野：循環器

キーワード：大動脈瘤

1. 研究開始当初の背景

高齢化や食生活の欧米化に伴い、粥状動脈硬化を基盤とした大動脈瘤患者数は増加の一步をたどっている。大動脈瘤は加齢と共に進展、拡大を来し、しばしば破裂や解離など致死性イベントを引き起こす。現在、薬物治療による厳格な降圧管理が推奨されているが、大動脈瘤進展を完全に予防することは未だ困難であり、進展予防のための新規治療法開発が急務である。

我々は粥状動脈硬化症患者における血栓性素因を調査する過程で、冠動脈、頸動脈、腎動脈、大動脈、腸骨動脈に高度かつ多彩な動脈硬化病変を呈し、腹部大動脈瘤を合併した先天性ヘパリンコファクター (HCII) 欠乏症例を発見した。この症例では腹部大動脈壁および腸骨動脈壁での免疫組織化学的検討により、血管壁における HCII の発現が著減していた⁽¹⁾。

トロンピンは流血中においてはプロテアーゼとしてフィブリン生成などの凝固活性化と血栓形成に参与している。さらにトロンピンは、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、血小板、単球・マクロファージに存在するトロンピン受容体(PAR1)を活性化して、細胞遊走・増殖、活性酸素産生など多彩な作用を発揮することも知られている。流血中のアンチトロンピンはヘパリン硫酸と結合することで活性化し、血液中のトロンピンの作用を阻害する。一方、HCII は心血管組織内の細胞外マトリックスに豊富に存在するデルマタン硫酸と結合することで活性化し、トロンピン作用を阻害することから、我々は HCII が組織内のトロンピン作用、すなわち組織トロンピン系を選択的に阻害することで、動脈硬化病変や心血管リモデリングの発症・進展を抑制しているという着想に至り、HCII 欠損マウスを作製した。その結果 HCII 欠損マウスの大動脈壁ピニルカフ傷害モデル、擦過モデルでは血管リモデリングは亢進し、ヒト HCII 蛋白の補充で抑制された。また apoE 遺伝子との二重変異マウスでは大動脈プラークの形成増大と活性酸素産生の増大が見られ、HCII は粥状硬化を含む血管リモデリング抑制因子として、大きな役割を果たしていることを明らかにした⁽²⁾。また、トロンピン受容体とアンジオテンシン受容体はいずれも 7 回膜貫通型 G 蛋白共役型受容体であり、共通の細胞内シグナル伝達系を活性化するため、HCII による組織トロンピン系の制御は組織 RAS 系とクロストークしている可能性がある。

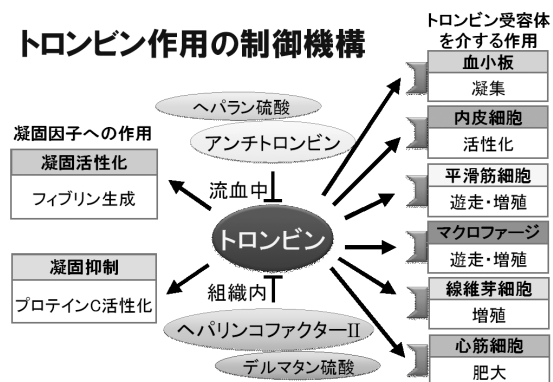
我々はこれまでに、血漿 HCII 活性が高い患者では冠動脈ステント留置後のステント再狭窄や頸動脈硬化症の頸動脈プラーク形成が抑制されることや⁽³⁾、血漿 HCII 活性が冠動脈疾患患者における予後予測因子であることを報告している (American Heart Association Scientific Session2008 において発表)。さらに我々は、HCII 欠損マウスを作

成し、ワイヤ擦過やピニルカフ留置による血管障害モデルを用いて、HCII が欠損した状態では組織トロンピンがより強く活性化されることにより血管障害が増強され、HCII を補充することによりその血管障害が抑制されることを見出した⁽²⁾。

これらのことから HCII の動脈硬化に対する作用から、粥状硬化を基盤病態とする大動脈瘤の進展にも HCII が関与していることが想定される。実際に、我々が報告した HCII 欠損症例では、巨大な腹部大動脈瘤を合併していた。また、HCII は生体内に存在する物質であり、その生理作用は傷害内皮下など組織内に存在するデルマタン硫酸と結合して初めて発揮するため、人体に投与したとしても傷害臓器以外の他臓器への影響は少なく、過度な出血などを助長することもないものとする。また今までの検討において HCII は血圧低下作用などのような循環器系に対する直接作用は認めていない。従って HCII 活性の低下している大動脈瘤患者に対して、有用な進展抑制薬となる可能性がある。

以上より、組織トロンピン系の活性化は、組織レニン・アンジオテンシン系と同様に粥状動脈硬化症の形成・進展に重要な役割を果たしていると考えられる。我々は組織トロンピン系を選択的に阻害する HCII が、大動脈瘤の形成・進展において防御的な役割を果たし、新たな治療薬となるという仮説を立てた。

トロンピン作用の制御機構



2. 研究の目的

大動脈瘤は、破裂や、解離に至るとその多くが致命的であるため、根治には侵襲的な手術治療を要する。しかしながら、近年多重リスクを抱えた手術治療が困難な高齢患者が増加しており、早期発見と瘤増大の抑制が重要課題となっているが、大動脈瘤形成・進展の機序は十分に解明されておらず、また予防につながる効果的な治療はまだ開発されていない。我々は組織内におけるトロンピン活性 (組織トロンピン系) を特異的に阻害する作用を有するヘパリンコファクター (HCII) が、動脈硬化性疾患や高血圧心などにおいて多面的な心血管保護作用を発揮することを報告してきた。そこで本研究において、大動脈瘤に対する組織トロンピン系、HCII の果たす役割を明らかにし、HCII の大動脈

瘤進展のバイオマーカーとしての意義および進展抑制因子としての臨床応用の可能性について検証する。

3. 研究の方法

高血圧、脂質異常症、糖尿病、喫煙、年齢等の粥状動脈硬化の危険因子を有する患者を対象として血漿 HCII 活性を測定し、大動脈瘤の有無と血中 HCII 活性との関係を検証する。また、大動脈瘤で通院している症例についても、HCII 活性を測定し、経時的な大動脈瘤径の増大との関係を検討する。

大動脈瘤の有無ならびに瘤径の増大の評価は、CT 画像を用いる。破裂・解離などのイベントと血漿 HCII 活性との間に相関がみられるか否かを検討する。血漿 HCII 活性および一般的な動脈硬化リスクを変数に組み入れた多変量解析を行い、血漿 HCII 活性が、大動脈瘤の存在や瘤径増大に独立して寄与しているか否かを明らかにする。

また、大動脈瘤の形成・進展における HCII の抑制効果とその作用機序について動物モデルを使用し解明する。動物モデルは小動物 (HCII 欠損マウス) を用いて大動脈瘤モデルを作製し、分子生物学的手法によって大動脈瘤の病態形成における HCII の意義について検証する。また、同時に HCII 投与による大動脈瘤形成抑制作用の有無を検証し、その作用機序の検討を行う。具体的には apoE ノックアウトマウスに HCII +/- マウスを交配し、apoE -/- x HCII +/- の 2 重変異マウスを作成する。このマウスに浸透圧ミニポンプを用いて、アンジオテンシン II を投与し、動脈瘤発生の頻度を apoE -/- x HCII +/- と比較する。また、apoE -/- x HCII +/- の 2 重変異マウスに HC の腹腔内投与を行い、アンジオテンシン II 負荷による動脈瘤形成が抑制されるか否かを検証する。

また摘出した動脈瘤を用い血管局所での組織変化に関する検討を行い、HCII の作用機序に関する検討を行う。具体的には、2 週間後に犠牲死させたマウス個体における腹部大動脈瘤形成頻度や大きさ、プラークの性状の差異を各マウスで比較する。Masson-Trichrome 染色の他、Oil red O 染色によるプラーク病変における lipid accumulation の評価に加え、粥状硬化病変部の PAR-1、SMA、Mac2、エラスチンなどの免疫染色によるプラークの性状評価を詳細に行なう。さらには投与した HCII 蛋白の病変における浸透度やデルマタン硫酸の病変分布についても組織学的に検証する。

4. 研究成果

現在、動脈瘤の症例ならびに対照症例のデータを集積中である。現時点で、123 例の臨床症例で HCII 活性を測定し解析を行った。動脈瘤との関係ならびに破裂・解離などのイベントを解析するにはまだ症例が不足し、症例をさらに増やし解析を予定している。また観

察期間を延ばし、破裂・解離などのイベントとの関係を検証していく。現時点で 123 例の臨床症例で解析を行った結果、血漿 HCII 活性が低いほど動脈瘤、末梢血管疾患、脳血管障害、冠血管を含めた血管障害の合併をより多く認めていることが分かった。動脈瘤単独では、まだ明確な因果関係の証明には至っていない。

動脈瘤との直接の関係が認められなかった場合は、血漿 HCII 活性と他の血管疾患(末梢血管疾患や脳血管障害、冠動脈疾患など)との相関関係も検討していく。

動物モデルを用いた大動脈瘤の形成・進展における HCII の抑制効果とその作用機序の検討は現在実施中である。

< 引用文献 >

- (1) Kanagawa Y. et al. Thromb Haemost. 2001;85:101-107, Aihara K, et al. J Atheroscler Thromb 2009;16:127-134, 2009
- (2) Aihara K. et al. J Clin Invest. 2007;117:1514-1526
- (3) Takamori N. et al. Circulation. 2004;109:481-486, Aihara K. et al. Circulation. 2004;109:2761-2765

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 5 件)

Kadota M, Ise T, Yagi S, Iwase T, Akaike M, Ueno R, Kawabata Y, Hara T, Ogasawara K, Bando M, Bando S, Matsuura T, Yamaguchi K, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Sata M. Response Prediction and Influence of Tolvaptan in Chronic Heart Failure Patients Considering the Interaction of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Arginine Vasopressin. Int Heart J. in press. 2016 査読有り

Yagi S, Aihara K, Fukuda D, Takashima A, Bando M, Hara T, Nishimoto S, Ise T, Kusunose K, Yamaguchi K, Tobiume T, Iwase T, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Shimabukuro M, Akaike M, Sata M. Reduced ratio of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid to arachidonic acid is associated with early onset of acute coronary syndrome. Nutr J. 2015;14:111. 査読有り

Yagi S, Aihara K, Akaike M, Fukuda D, Salim HM, Ishida M, Matsuura T, Ise T, Yamaguchi K, Iwase T, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Shimabukuro M, Matsumoto T, Sata M. Predictive Factors for Efficacy of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors in Patients

with Type 2 Diabetes Mellitus. Diabetes Metab J. 2015;39:342-347. 査読有り
Yagi S, Aihara K, Fukuda D, Takashima A, Hara T, Hotchi J, Ise T, Yamaguchi K, Tobiume T, Iwase T, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Shimabukuro M, Akaike M, Sata M. Effects of docosahexaenoic Acid on the endothelial function in patients with coronary artery disease. J Atheroscler Thromb. 2015;22:447-454. 査読有り
Takashima A, Ise T, Yagi S, Iwase T, Kimura S, Ueda Y, Nishikawa K, Ishii A, Niki T, Yamaguchi K, Taketani Y, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Katoh S, Akaike M, Sata M. Cardiac Rehabilitation Reduces Serum Levels of Oxidized Low-Density Lipoprotein. Circ J. 2014;78:2682-2687. 査読有り

[学会発表](計1件)

第80回日本循環器学会学術集会 仙台国際センター(岩手県・仙台市): 2016年3月18-20日 Modulation of Tissue Thrombin Action is a Novel Therapeutic Approach for Prevention of Polyvascular Disease.

6. 研究組織

研究代表者

伊勢 孝之 (ISE, Takayuki)

徳島大学・病院・助教

研究者番号: : 90621649