

令和元年6月16日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10237

研究課題名(和文) RAGEを分子標的とした静脈グラフト吻合部石灰化抑制効果の検討

研究課題名(英文) Examination of calcification of anastomotic site by suppression of RAGE expression

研究代表者

榊原 賢士 (SAKAKIBARA, Kenji)

山梨大学・大学院総合研究部・講師

研究者番号：40419338

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)：グラフト閉塞の原因となる内膜肥厚に対し、抗凝固剤等の治療が行われてきたが定まった治療法はまだない状況であり、さらに閉塞したグラフト吻合部を精査すると、内膜肥厚も認めるが石灰化をきたしていることが多い。そのため、この石灰化のメカニズムを精査することがさらなるグラフト開存につながることを予測される。最終糖化反応生成物である(advanced glycation end-product: AGE)に注目した。AGEは血管平滑筋細胞の増殖を促進させるため吻合部において内膜肥厚を起こす要因のひとつと考えられた。そして、AGEを投与した群では、コントロール群と比較して形質転換が誘導され石灰化が促進された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動脈硬化症に対するバイパス術の患者は増加傾向にある。静脈グラフトを使用したバイパス閉塞は、吻合部での血管内膜肥厚が主たる原因と考えられ、10年の間に約60%は閉塞すると報告されている。この内膜肥厚の原因として、血管平滑筋の遊走能、増殖能の亢進、細胞外基質の堆積、アポトーシス抑制によるものが主な原因とされている。さらに臨床検体を検討すると、吻合部で石灰化をきたしていることが確認され、血管壁の石灰化もグラフト閉塞の一つの要因と考えられた。今回そのメカニズムの検討を行った。

研究成果の概要(英文)：Intimal hyperplasia is one of the most important reasons of graft occlusion. We have aimed to prevent from intimal hyperplasia to keep the graft patency. We think that the signaling of calcification would lead to further graft patency. The advanced glycation end-product (AGE) increased the proliferation of vascular smooth muscle cells. It was considered to be one of the causes of intimal thickening at the anastomosis. In the group to which AGE was administered, transformation was induced and calcification was promoted as compared with the control group.

研究分野：動脈硬化

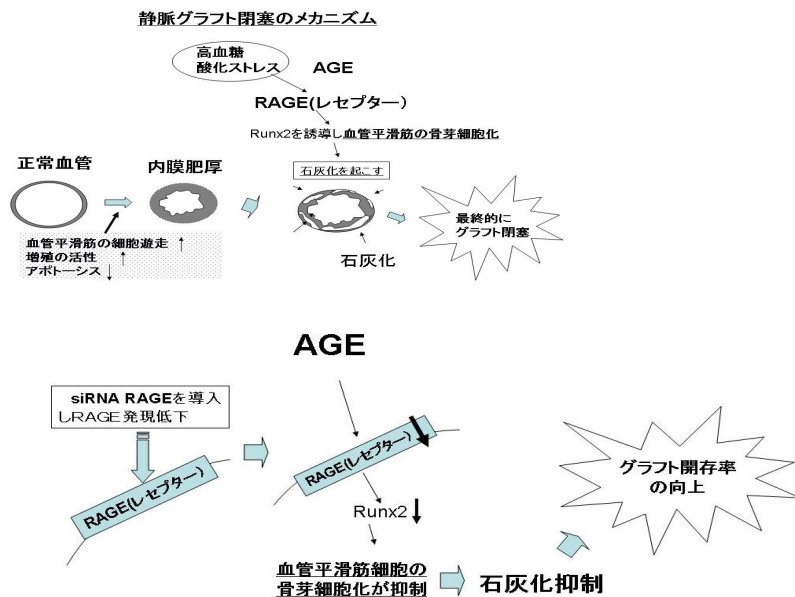
キーワード：AGE

1. 研究開始当初の背景

薬物溶出性ステントは冠動脈へステント留置後、再狭窄抑制作用が有効であることが示されている。そのなかでrapamycinは、mTOR (mammalian Target Of Rapamycin) を制御し細胞増殖、遊走の抑制、アポトーシスを促進し冠動脈内の内膜肥厚を抑制する。このことにより冠動脈ステントの開存率が改善されてきた。しかし、下肢のバイパスや冠動脈バイパス手術においてグラフト閉塞の原因となる内膜肥厚に対し、抗凝固剤投与等行われてきたが効果が少ない。われわれは内膜肥厚を抑えることを目指してきた。実際に閉塞したグラフト吻合部を精査すると、内膜肥厚も認められるが、さらにその周囲で石灰化していることが多い。そのため、この石灰化に注目しシグナリングを精査することがさらなるグラフト開存につながる事が予測された。大動脈弁狭窄症に対して待機的に大動脈弁置換術を施行した81例を対象とした大動脈の石灰化に関する検討を施行した。胸部単純CTにて上行大動脈1スライス上、動脈壁の石灰化が全周の25%以上認めた石灰化群(25例)それ以下のコントロール群(56例)とした。糖尿病を併存した群では(コントロール群:19.6%、石灰化群:32.0%)と有意に高率であった。そのため石灰化と糖尿病において強い関連があることが推察された。

2. 研究の目的

吻合部での石灰化は、グラフト閉塞に関連があると予測される。この石灰化を抑制することが可能であれば、グラフト開存率の向上につながるかと仮説をたてた。血管平滑筋において石灰化の原因は血管内膜損傷部にカルシウムが沈着することにより起こると考えられていた。最近、In vitroでの検討報告では、糖尿病や糖尿病性腎症の悪化に関与する最終糖化反応生成物(advanced glycation end-product: AGE)が石灰化に関連があると報告された。そのメカニズムは、最終糖化反応生成物(AGE)が細胞のRAGE(receptor of AGE)へ結合したのち、AGEの容量にしたがってRunx2の発現を誘導させ、血管平滑筋細胞を骨芽細胞へ形質転換することにより石灰化をおこす。今回、われわれは、新たな静脈グラフト開存率の向上を目的とした石灰化抑制法として、このAGEのレセプターであるRAGEを標的とする遺伝子治療を計画した。



siRNA RAGEの導入によりAGEのシグナリングを抑制し、グラフトの開存率向上を目指す。

3. 研究の方法

まずヒト正常大動脈平滑筋細胞へ糖化蛋白終末物 AGE を使用し、大動脈由来の細胞において形質転換し石灰化をきたすかどうか検討する。そして、RAGE の蛋白発現を抑制することにより平滑筋細胞の形質転換の抑制効果を確認する。

4. 研究成果

AGE は血管平滑筋細胞の増殖を促進させた。そのことは、吻合部において内膜肥厚の原因の一つと考えられる。

AGE を投与した群では、コントロール群と比較して AGE によって形質転換が誘導され骨芽細胞化し石灰化が促進された。アリザリンレッド S 染色にて AGE が血管平滑筋細胞の石灰化を促進することが証明された。このことは、糖尿病では AGE が血管壁における石灰化の因子となり得る。

siRNA 使用し RAGE の蛋白発現を抑制することにより平滑筋細胞の形質転換を抑制するかどうか検討をおこなった。しかし安定して発現を抑制することが難しく、AGE-RAGE のシグナリングを抑制する阻害薬である FPS-ZM1 を使用し引き続き継続して研究を行う予定である。

引用論文

1) Rapamycin inhibits fibronectin-induced migration of the human arterial smooth muscle line (E47) through the mammalian target of rapamycin.
Sakakibara K, Liu B, Hollenbeck S, Kent KC.
Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2005 Jun;288(6):H2861-8. 査読有

2) PDGF-BB regulates p27 expression through ERK-dependent RNA turn-over in vascular smooth muscle cells.
Sakakibara K, Liu B, Hollenbeck S, Kent KC.
J Biol Chem. 2005 Jul 8;280(27):25470-7. 査読有

3) Sakakibara k, Study of aortic valve stenosis associated with calcified ascending aorta.
(The 22st Annual Meeting of the Asian society for cardiovascular and thoracic surgery)抄録集、査読有

5. 主な発表論文等

(研究代表者は下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

(1) 腹部大動脈をアクセスルートに選択した緊急 TEVAR の 2 例

日本血管外科学会雑誌 27 477-480 2018 査読有

榊原賢士、中島博之、白岩聡、本田義博、葛仁猛、加賀重亜喜、鈴木章司

(2) 腹部大動脈をアクセスルートとした TEVAR (Thoracic endovascular aortic repair) の 1 例

榊原賢士、中島博之、佐藤大樹、白岩聡、本田 義博、葛仁猛、加賀重亜喜、鈴木章司、岡田大樹、今泉瑛、荒木拓次
山梨医学 44 57-60 2017 年 査読有

(3) A case of chondrosarcoma originating from the pulmonary artery
Kenji SAKAKIBARA, Hiroyuki NAKAJIMA
Asian Cardiovascular and Thoracic Annals 25(5) 398-399 2017 査読有

〔学会発表〕(計6件)

(1) 急性 A 型大動脈解離・上行置換後の遠隔期広範囲瘤に対して一期的手術を施行した症例

榊原賢士、中島博之、白岩聡、本田義博、葛仁猛、加賀重亜喜、鈴木章司
第 48 回日本心臓血管外科学会学術総会 2018 年

(2) 80 歳以上の腹部大動脈瘤症例のフレイル評価

榊原賢士、中島博之、白岩聡、本田義博、葛仁猛、加賀重亜喜、鈴木章司
第 59 回日本脈管学会総会 2018 年

(3) 腹部大動脈をアクセラトとした T E V A R 症例の検討

榊原賢士、中島博之、白岩聡、本田義博、葛仁猛、加賀重亜喜、鈴木章司
第 58 回日本脈管学会総会 2017 年

(4) 術前臓器虚血を伴った急性 A 型大動脈解離に対する当院での手術戦略

榊原賢士、中島博之、白岩聡、本田義博、葛仁猛、加賀重亜喜、鈴木章司
第 45 回日本血管外科学会学術総会 2017 年

(5) 85 歳以上の腹部大動脈瘤の治療成績

榊原賢士、中島博之、白岩聡、本田義博、葛仁猛、加賀重亜喜、鈴木章司
第 47 回日本心臓血管外科学会学術総会 2017 年

(6) Surgical treatment of left ventricular pseudoaneurysm following inferior wall myocardial infarction

Yukiyo YOSHIDA, Kenji SAKAKIBARA, Kentaro KAMIYA, Yoshihiro HONDA, Masatake KATSU, Shigeaki KAGA, Shoji SUZUKI, Hiroyuki NAKAJIMA

ASCVT2015 (23rd Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery) 2015 年

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

5 . 研究組織

研究協力者

〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

〔その他の研究協力者〕

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。