

令和元年6月20日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10618

研究課題名(和文) マイクロRNA発現制御による海綿体再生治療法の新規開発

研究課題名(英文) Development of a novel method for the regeneration of the cavernous body by regulating micro RNA expression

研究代表者

西松 寛明 (Nishimatsu, Hiroaki)

東京大学・医学部附属病院・登録診療員

研究者番号：60251295

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：動脈硬化巣に形成されるアテロームプラークの破綻は冠動脈の閉塞を来して急性心筋梗塞の原因になるので、プラークの破綻を防ぐ手段を確立することは喫緊の課題である。破綻しやすいプラークの特徴としてプラーク被膜が薄くなることはよく知られているが、そこへ至る過程にプラーク内出血がプラーク不安定化に關与する事が知られている。我々は動脈硬化モデルマウスで炎症性サイトカインである interleukin-1beta (IL-1beta) がプラーク内出血に關わる事を発見しその機序としてIL-1betaが正常な血管新生を抑制して未熟な血管新生を促進するためにプラーク内出血を生じる事を報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性心筋梗塞は代表的な心血管病であり発症を防ぐことは国民の健康寿命を延ばすために重要である。今回我々はマウスのモデルではあるが炎症性サイトカインである interleukin-1beta (IL-1beta) の発現を抑制すると急性心筋梗塞の発症を予防できる可能性を示すことができた。今後IL-1betaの阻害薬あるいは活性阻害抗体薬などが開発されることを期待したい。

研究成果の概要(英文)：The rupture of plaques in atherosclerotic lesion causes the obstruction of the coronary artery, leading to acute myocardial infarction. Therefore, it is pivotal to establish a method to prevent plaque rupture. It is well known that plaques with thin-cap fibroatheroma is vulnerable to damages and often rupture. Intraplaque hemorrhage (IPH) is regarded as a major factor that triggers the instability and vulnerability of plaques. We found that the proinflammatory cytokine interleukin-1beta (IL-1beta) is implicated in IPH using a mouse model of atherosclerosis. We also found that IL-1beta inhibits normal angiogenesis and stimulates immature angiogenesis, which results in the leakage of erythrocytes from new vessels in the plaques and IPH.

研究分野：泌尿器科学、勃起不全

キーワード：動脈硬化 プラーク内出血 炎症性サイトカイン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

動脈硬化巣に形成されるアテロームプラークの破綻は急性冠症候群の原因になるので、プラークの破綻を防ぐ手段を確立することは喫緊の課題である。破綻しやすいプラークの特徴としてプラーク被膜が薄くなることはよく知られているが、そこへ至る過程にプラーク内出血がプラーク不安定化に関与する事が知られている。

我々はプラーク内出血を人為的に誘発するモデルを Apolipoprotein E (ApoE) 欠損マウスで確立してプラーク内出血を起こす誘因を検討した。モデルは ApoE 欠損マウスの頸動脈を4週間結紮後に頸動脈周囲へポリエチレン製のカフをまいて5日間経過を観察するというものである。このモデルでは頸動脈結紮のみでは新生内膜形成は促進されるが、プラーク内出血は起こさない。しかしカフをまくと5日後には高率に(約90%)プラーク内出血を起こす。このモデルで発現が変化する炎症性サイトカインをスクリーニングした所 interleukin-1beta (IL-1beta) の発現が著明に(約30倍)増加する事が判明した。

#### 2. 研究の目的

我々は IL-1beta のプラーク内出血への関与を機能的に確認するために IL-1beta の発現を抑制する small interfering RNA (siRNA) をカフの内側に投与してその効果を調べた。

#### 3. 研究の方法

(1) IL-1beta の発現を抑制する siRNA を頸動脈周囲へポリエチレン製のカフをまく時に同時に投与してプラーク内出血を抑制するか否かを検討した。

(2) プラーク内出血を起こす機序を検討するためにプラーク内の血管内皮細胞のマーカーとして VE-cadherin を染色した。

(3) 血管内皮細胞培養細胞(VECs)を matrigel 上にまいて管腔構造を形成させた時に IL-1beta が管腔構造形成にどのような効果を及ぼすか検討した。

(4) VECs をまいた培養皿表面をチップで擦過して傷害を加え、その後の VECs の遊走能力を調べる事により IL-1beta が VECs の遊走能に与える効果を検討した。

#### 4. 研究成果

(1) IL-1beta の発現を抑制する siRNA をカフの内側に投与するとプラーク内出血は有意に抑制された。

(2) VE-cadherin を染色した所、予想外に IL-1beta siRNA を投与してプラーク内出血が抑制された群で有意に VE-cadherin 陽性領域が多く、一方対照の siRNA を投与してプラーク内出血が起きた群で VE-cadherin 染色陽性部位は少なかった。

(3) IL-1beta は matrigel 上での VECs の管腔構造形成を有意に抑制した。

(4) IL-1beta は VECs の遊走を有意に抑制した。

以上の結果より IL-1beta は正常な血管新生を抑制してプラーク内出血を促進する事が in vivo および in vitro で示唆された。プラーク内の血管新生はプラーク内の脂質を血管外へ運び出して動脈硬化巣の進展を抑制するために有効であるが、正常な血管が形成されないと逆にプラーク内出血を起こすのではないかと推測される。

今後は IL-1beta がアテロームプラークの破綻に関与しているかどうか検討したい。

また IL-1beta は正常な血管新生を抑制するのでペニス海綿体の再生を抑制する事が推測される。この事を確認するために糖尿病モデルを用いてペニス海綿体での IL-1beta 発現の変化、内因性 IL-1beta 発現を抑制した時の勃起能の回復の有無などを検討し、勃起不全に IL-1beta がどのように関わっているか検討したい。

#### 5. 主な発表論文等

1. [Suzuki E](#), Imuta H, Fujita D, Takahashi M, Oba S, Kiyosue A, [Nishimatsu H](#). Endogenous interleukin-1beta is implicated in intraplaque hemorrhage in apolipoprotein e gene null mice. *Circ J*. 2018;82:1130-1138
2. [Suzuki E](#), Fujita D, Takahashi M, Oba S, [Nishimatsu H](#). Therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes in cardiovascular disease. *Advances in experimental medicine and biology*. 2017;998:179-185
3. [Suzuki E](#), Fujita D, Takahashi M, Oba S, [Nishimatsu H](#). Stem cell-derived exosomes as a therapeutic tool for cardiovascular disease. *World journal of stem cells*. 2016;8:297-305
4. [Suzuki E](#), Fujita D, Takahashi M, Oba S, [Nishimatsu H](#). Adult stem cells as a tool for kidney regeneration. *World J Nephrol*. 2016;5:43-52

5. Naito A, Taguchi S, Nakagawa T, Matsumoto A, Nagase Y, Tabata M, et al. Prognostic significance of serum neuron-specific enolase in small cell carcinoma of the urinary bladder. *World J Urol.* 2017;35(1):97-103. Epub 2016/05/14. doi: 10.1007/s00345-016-1846-y. PubMed PMID: 27180266.
6. Nakagawa T, Komemushi Y, Kawai T, Otsuka M, Miyakawa J, Uemura Y, et al. Efficacy of post-nephroureterectomy cisplatin-based adjuvant chemotherapy for locally advanced upper tract urothelial carcinoma: a multi-institutional retrospective study. *World J Urol.* 2017;35(10):1569-75. Epub 2017/04/12. doi: 10.1007/s00345-017-2032-6. PubMed PMID: 28397000.
7. Nakagawa T, Taguchi S, Uemura Y, Kanatani A, Ikeda M, Matsumoto A, et al. Nomogram for predicting survival of postcystectomy recurrent urothelial carcinoma of the bladder. *Urol Oncol.* 2017;35(7):457.e15-.e21. Epub 2017/01/16. doi: 10.1016/j.urolonc.2016.12.010. PubMed PMID: 28110856.
8. Nakagawa T, Taguchi S, Kanatani A, Kawai T, Ikeda M, Urakami S, et al. Oncologic Outcome of Metastasectomy for Urothelial Carcinoma: Who Is the Best Candidate? *Ann Surg Oncol.* 2017;24(9):2794-800. Epub 2017/07/09. doi: 10.1245/s10434-017-5970-8. PubMed PMID: 28687875.

〔雑誌論文〕(計 8 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔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

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：鈴木 越

ローマ字氏名：SUZUKI, ETSU

所属研究機関名：聖マリアンナ医科大学

部局名：医学（系）研究科（研究院）

職名：講師

研究者番号（8桁）：40313134

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

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。