

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19924

研究課題名(和文)細胞周期関連蛋白 BubR1 の内膜肥厚病変における機能解析

研究課題名(英文)Functional analysis of cell cycle-related protein BubR1 in intimal hyperplasia lesions

研究代表者

久良木 亮一 (KYURAGI, Ryoichi)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：20631592

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：【背景】BubR1は細胞周期関連蛋白である。BubR1L/L-ApoE^{-/-}マウスを作製し、動脈硬化におけるBubR1の役割を検討した。【方法と結果】動脈硬化巣はApoE^{-/-}マウスと比較して、BubR1L/L-ApoE^{-/-}マウスで有意に抑制され、かつマクロファージの蓄積が減少していた。BubR1の骨髄由来細胞も非骨髄由来細胞も動脈硬化の抑制に関与した。骨髄由来マクロファージの遊走能に有意な差は認めなかったが、BubR1L/L-ApoE^{-/-}マウスでは増殖能が低下していた。【結論】BubR1は動脈硬化を抑制する新たな治療のターゲットになり得る可能性がある。

研究成果の概要(英文)：【Background】BubR1 is a cell cycle-related protein. We generated BubR1L/L-ApoE^{-/-} mice to examine the role of BubR1 in arteriosclerosis. 【Methods and Results】The arteriosclerotic lesion was significantly suppressed in BubR1L/L-ApoE^{-/-} mice and the accumulation of macrophages was decreased as compared with ApoE^{-/-} mice. Bone marrow-derived cells and non-bone marrow-derived cells of BubR1 were involved in suppression of arteriosclerosis. There was no significant difference in the migratory ability of bone marrow-derived macrophages, but the proliferative capacity was decreased in BubR1L/L-ApoE^{-/-} mice. 【Conclusions】BubR1 may be a target for new treatments to suppress arteriosclerosis.

研究分野：血管外科

キーワード：動脈硬化 内膜肥厚 BubR1

1. 研究開始当初の背景

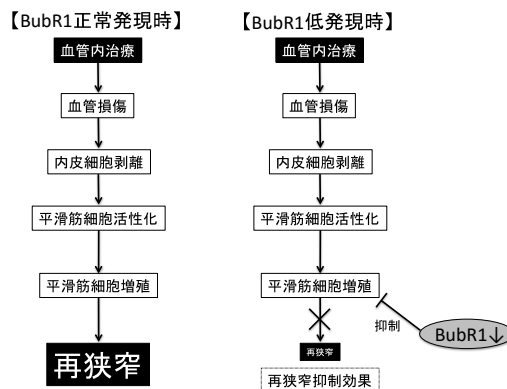
心筋梗塞や脳梗塞などの動脈硬化性疾患は日本のみならず世界の死因としても重要な基礎疾患となっている。心筋梗塞、狭心症などの虚血性心疾患や下肢閉塞性動脈硬化症に対する治療としてバルーン拡張術やステント留置術といった血管内治療が果たす役割は年々増えいき、適応も拡大している。しかしながら治療後に生じる動脈再狭窄・閉塞は再治療が必要となるだけでなく、治療前よりも血流状態を悪化させる可能性もある。この術後再狭窄・閉塞の主な原因は内膜内への血管平滑筋細胞の遊走・増殖による内膜肥厚であり、この過剰内膜抑制のため各種薬剤溶出性ステント・バルーンを使用した治療法が登場したが、内膜肥厚の完全な制御には至っていない。

細胞周期遺伝子 Bub1b の発現蛋白 BubR1 は、発現低下による発癌率の上昇、老化の表現型(短命、亀背、白内障、不妊など)を示すことが知られている(Jan van Deursen, et al. Nature genetics, 2004)。脈管系との関連性に関しては Matsumoto らにより BubR1 低発現マウス(BubR1 hypomorphic mouse)での大動脈平滑筋細胞数の減少、内皮細胞機能の低下など老化特有の特徴を示すことが明らかとなった(Matsumoto, et al. Stroke, 2007)。

2. 研究の目的

我々は平成 22 年度基盤研究(C)において、BubR1 低発現マウス(BubR1 low-expression mouse)を新たに作製した。このマウスは既報とは異なり老化の表現型は示さないが、頸動脈結紮モデルにてほぼ完全に内膜肥厚を抑制されたこと、初代培養細胞にて血管平滑筋細胞の増殖能が低下(遊走能は変化なし)していること、細胞周期遅延(S 期)を認めること、p38 MAPK 発現低下が関与していることを明らかにした(Kyuragi R et al. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2015;35:341-347)。この知見に基づき、BubR1 発現制御による動脈硬

化性疾患の予防が可能か検討する。



3. 研究の方法

上記研究目標を達成するために、BubR1 低発現マウスおよび動脈硬化モデルマウス ApoE ノックアウトマウスとの交配マウスを用いて、以下の事項について検討する。

1. BubR1 低発現/ApoE ノックアウトマウスおよび ApoE ノックアウトマウスにおける脂質プロファイルの検討(普通食、高脂肪食)
2. BubR1 低発現/ApoE ノックアウトマウスにおける動脈硬化巣への影響の解析
3. 骨髄移植モデルにおける BubR1 の影響の検討
4. マクロファージの増殖能・遊走能の検討

4. 研究成果

1. 脂質プロファイルの検討

BubR1 低発現/ApoE ノックアウトマウスおよび ApoE ノックアウトマウスとの間で脂質プロファイル(総コレステロール、中性脂肪、LDL、HDL)は有意差を認めなかった(普通食、高脂肪食ともに)。

Table 2. Lipid Profiles of ApoE^{-/-} and BubR1^{low}ApoE^{-/-} Mice

Measurement	ApoE ^{-/-}		BubR1 ^{low} ApoE ^{-/-}	
	Pre	Post*	Pre	Post*
Total cholesterol, mg/dL	449.0±23.7	1031.0±36.5	431.6±32.2	1078.3±83.8
LDL cholesterol, mg/dL	282.6±18.1	833.0±21.1	306.1±14.6	916.1±76.5
HDL cholesterol, mg/dL	50.6±4.9	65.7±12.1	41.6±4.9	55.9±4.4
Triglycerides, mg/dL	82.3±17.2	56.6±9.3	93.5±33.9	53.7±7.8

The data are expressed as the mean±SE, n=7 in each group. Post indicates after 12 weeks of HCD treatment. Pre indicates at the beginning of 12 weeks of HCD treatment. ApoE^{-/-} indicates apolipoprotein E-deficient; BubR1, BubR1 unimpaired by benzimidazole-treated; HCD, high-cholesterol diet; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein. *p<0.05, pre vs post; Student's t-test.

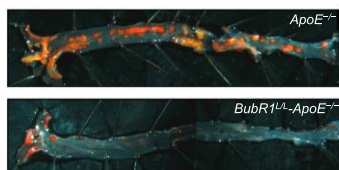
Table 3. Lipid Profiles of Bone Marrow-Transplanted Model Mice After 12 Weeks of HCD Treatment

Measurement	ApoE ^{-/-} →ApoE ^{-/-}	BubR1 ^{low} ApoE ^{-/-} →ApoE ^{-/-}	ApoE ^{-/-} →BubR1 ^{low} ApoE ^{-/-}	BubR1 ^{low} ApoE ^{-/-} →BubR1 ^{low} ApoE ^{-/-}	P Value*
	Total cholesterol, mg/dL	1045.5±82.0	1057.1±60.7	1019.1±52.1	1046.0±50.1
LDL cholesterol, mg/dL	888.4±77.6	909.4±49.6	871.8±52.7	879.6±52.9	0.99
HDL cholesterol, mg/dL	74.5±7.4	76.8±12.4	80.8±7.8	77.3±7.2	0.94
Triglycerides, mg/dL	69.8±13.2	66.4±6.9	62.0±10.4	66.3±8.3	0.94

The data are expressed as the mean±SE, n=6 in each group. ApoE^{-/-} indicates apolipoprotein E-deficient; BubR1, BubR1 unimpaired by benzimidazole-treated; HCD, high-cholesterol diet; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein. *p<0.05, any method.

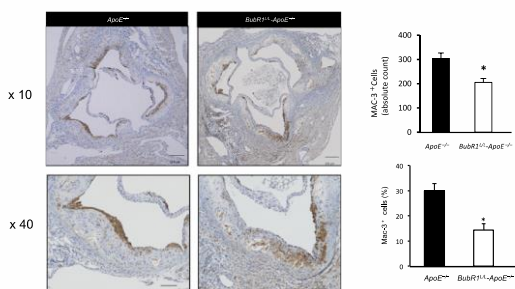
2. 動脈硬化巣の評価

BubR1 低発現/ApoE ノックアウトマウスでは ApoE ノックアウトマウスで観察される動脈硬化巣が有意に抑制されていた。



さらに動脈硬化巣へのマクロファージ蓄積も抑制されていた。

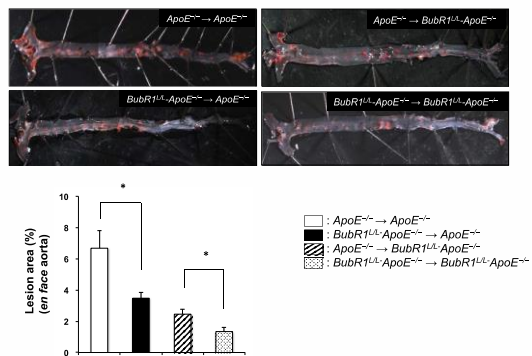
D MAC-3



3. 骨髄移植モデルでの検討

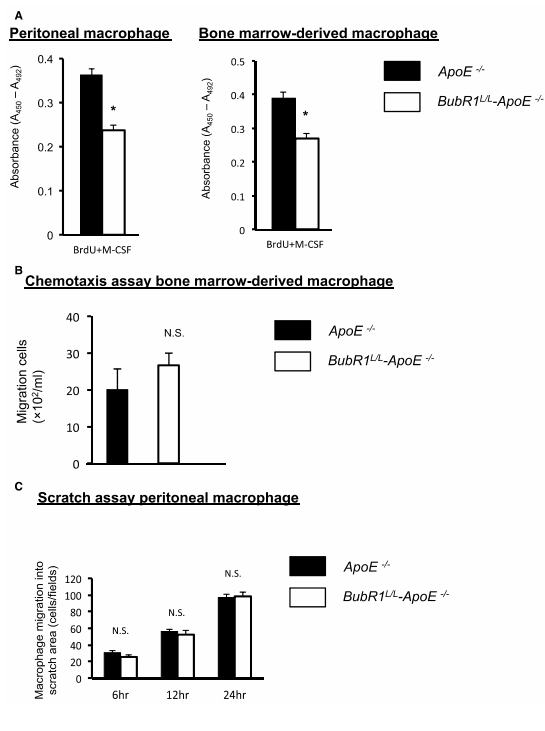
BubR1 骨髄由来細胞も非骨髄由来細胞ともに動脈硬化巣抑制に関与していた。

A en face aorta



4. マクロファージの遊走能・増殖能の検討

BubR1 低発現/ApoE ノックアウトマウスと ApoE ノックアウトマウスとでは骨髄由来マクロファージの遊走能に有意差を認めなかったが、増殖能は BubR1 低発現/ApoE ノックアウトマウスで有意に低下していた。



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1件)

Shinichi Tanaka, Takuya Matsumoto, Yutaka Matsubara, Yui Harada, Ryoichi Kyuragi, Jun-ichiro Koga, Kensuke Egashira, Yutaka Nakashima, Yoshikazu Yonemitsu, Yoshihiko Maehara. BubR1 Insufficiency Results in Decreased Macrophage Proliferation and Attenuated Atherogenesis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. Journal of the American Heart Association. 2016; 5:e004081.

[学会発表] (計0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：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

久良木 亮一 (KYURAGI, Ryoichi)
九州大学・医学研究院・共同研究員
研究者番号:20631592

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

田中 慎一 (TANAKA, Shinichi)