

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 17 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19928

研究課題名(和文)大動脈瘤における免疫グロブリンの役割と免疫制御分子Sykに着目した治療法開発

研究課題名(英文)The role of immunoglobulins and Syk in pathogenesis of abdominal aortic aneurysm

研究代表者

古荘 文(FURUSHO, AYA)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：80597427

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)：本研究では、大動脈瘤における免疫グロブリンとSykの意義を検討した。B細胞欠損マウス(μMT)では大動脈瘤形成が抑制された。μMTへの免疫グロブリン(Ig)投与は、Syk、NFκB活性とMMP-9発現を増加させ野生型と同程度の瘤が形成を引き起こした。野生型マウスにSyk阻害薬を投与すると、瘤壁のIgG沈着、Syk、JNK、STAT3活性が抑制された。ヒト瘤組織培養にIgを投与するとMMP-9発現とIL-6分泌が増加した。B細胞から産生されるIgはSyk活性化を含む炎症応答の促進を介して瘤病態を増悪させることが明らかになった。今後、瘤の病勢評価や治療法開発に向けた研究を進める。

研究成果の概要(英文)：In this project, we examined the role of immunoglobulins (Ig) and Syk in pathogenesis of abdominal aortic aneurysm (AAA) using human AAA tissue culture and mouse AAA. We found that B cell-deficient mice (mu-MT) developed smaller AAA than wild type (WT) mice. Administration of mouse Ig to mu-MT resulted in larger AAA with higher activation of inflammatory signaling molecules including Syk and higher expression of MMP-9. In human AAA tissue culture, administration of human Ig resulted in the increase in secretions of IL-6 and MMP-9. In mouse AAA, administration of fostamatinib, a specific Syk inhibitor, effectively suppressed activations of Syk and JNK and deposition of Ig in AAA tissue. These findings indicate that B cells, Ig and Syk constitute an essential part of inflammatory pathway in AAA pathogenesis. Future research should be directed to examine the clinical application of these findings for novel diagnostic and therapeutic strategies.

研究分野：分子循環器学

キーワード：大動脈瘤 B細胞 免疫グロブリン Syk

1. 研究開始当初の背景

【臨床的背景】

大動脈瘤は無症状のまま大動脈壁の局所的な脆弱化と拡張が進行し、破裂により突然死をきたす原因不明の疾患である。本邦では年間数万人が新たに発症すると推定され、人口高齢化による急増が懸念される。現在の治療法は大径瘤に対する破裂予防手術に限られており、大血管手術症例の50%以上を占める。症例の大多数を占める小径瘤は年間0.5-5%が破裂をきたすが治療法は確立されていない。現時点では瘤破裂の危険性は専ら瘤径で評価されており、病態活動性の指標がない。病態活動指標が得られれば、破裂危険度の高い患者の層別化による個別最適化医療の実現に大きく前進する。

【学術的背景】

大動脈瘤の基盤は慢性炎症である。動脈硬化と比較して大動脈瘤ではB細胞浸潤と免疫グロブリン沈着が特徴的であり (Ramshaw, Histopathology, 1990)、瘤壁に存在するリンパ球、マクロファージが大動脈瘤の病態を促進すると報告されている (Koch, Am J Pathol, 1990)。しかし大動脈瘤におけるB細胞の役割は不明であった。

我々は、B細胞が瘤病態に関わるとの仮説で研究を進め、以下の知見を得た (H25-26 若手研究B)。

ヒト瘤組織：

B細胞および形質細胞が、T細胞やマクロファージと細胞集団を形成していた。

ヒト瘤壁培養：

ヒト免疫グロブリン投与で IL-6 分泌が増加した。

マウス大動脈瘤モデル：

大動脈瘤周囲に塩化カルシウムを塗布する瘤モデルにおいて、瘤壁にB細胞浸潤と免疫グロブリン (IgM, IgG) の沈着を認めた。

B細胞欠損マウス  $\mu$ -MT マウスでは野生型に比べ瘤形成が抑制され、MMP-9 も減少していたが、免疫グロブリン投与で増加した。

これらの知見は、B細胞が免疫グロブリンを介して瘤病態を促進することを示す。しかし、大動脈瘤においてB細胞自体を治療標的とすることは現実的ではない。

我々は、免疫グロブリンによる炎症活性化機構を解明することで瘤病態の解明が飛躍的に進み、現時点では困難な瘤病態の制御や病態診断が可能になると着想した。

免疫グロブリンは炎症細胞表面のFc受容体に結合し、Syk活性化を介して炎症シグナルを伝達する。Sykは炎症細胞特異的に発現する。Srcファミリーチロシンキナーゼであり、B細胞の活性化にも必須の役割を果たす。

本研究では、瘤における免疫グロブリンおよびSykの役割が明らかになることで、病態評

価が可能になると期待される。さらに、病態を悪化させる機序が明らかになることで、B細胞や免疫グロブリンが作用する細胞/系を一時的に抑制するなど、病態診断と一体化した新たな治療戦略の開発が期待される。

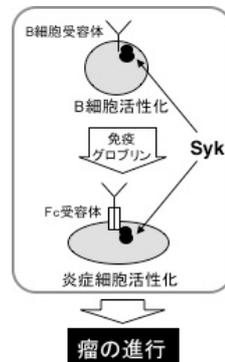


図1. 本研究の仮説

2. 研究の目的

本研究の目的は、大動脈瘤における免疫グロブリンの役割を解明し、免疫制御分子 Syk に着目した病態の評価と制御を実現することである。

3. 研究の方法

【実験系】

(1) マウス大動脈瘤モデル

大動脈瘤周囲に塩化カルシウムを塗布して慢性炎症を惹起し、約6週間で瘤が完成するCaモデルを用いて、大動脈瘤における免疫グロブリンとSykの関連を検証した。野生型マウス、 $\mu$ MTマウスでCaモデルを作成し解析した。免疫グロブリンまたはSyk阻害薬投与/非投与を行い、炎症に与える影響を調べた (図2)。

(2) ヒト大動脈瘤組織

書面にて同意を得た腹部大動脈瘤患者の人工血管置換術中に組織を採取した。ヒト大動脈瘤は組織構築を保持したまま培養が可能である。免疫グロブリン投与/非投与を行い、炎症や組織破壊に与える影響を調べた。

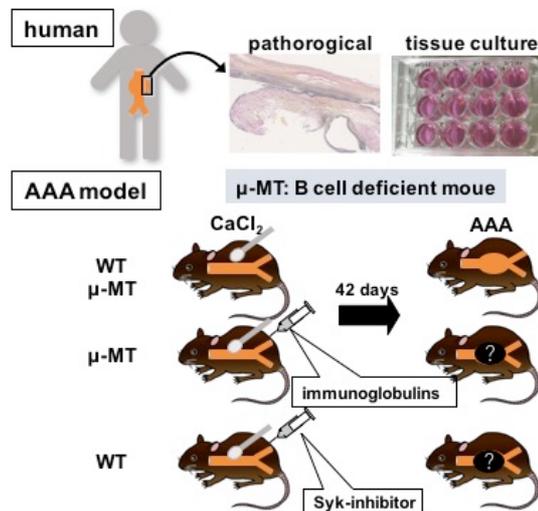


図2. 本研究の実験系

#### 4. 研究成果

##### (1) マウス大動脈瘤モデル

$\mu$ MT マウスの大動脈瘤モデルに免疫グロブリンを投与すると、非投与群と比較して Syk、NFkB の活性化と MMP-9 の発現が増加し、瘤形成が促進された(図 3、図 4)。

野生型マウスの大動脈瘤モデルに Syk 阻害薬 (R788) を投与すると、非投与群と比較して瘤壁の IgG 沈着と、Syk、JNK、STAT3 の活性化が抑制された(図 5)。

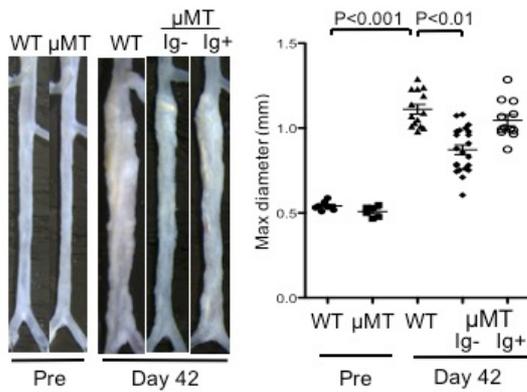


図 3. 免疫グロブリンはマウス大動脈瘤を促進する。

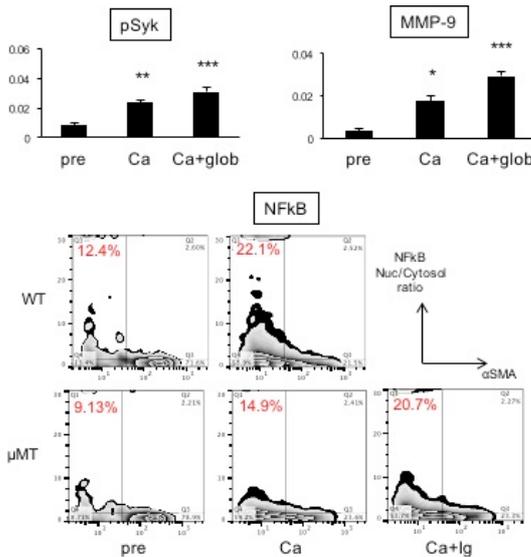


図 4. 免疫グロブリンは瘤壁の Syk、NFkB を活性化し MMP-9 の発現を増加させる。

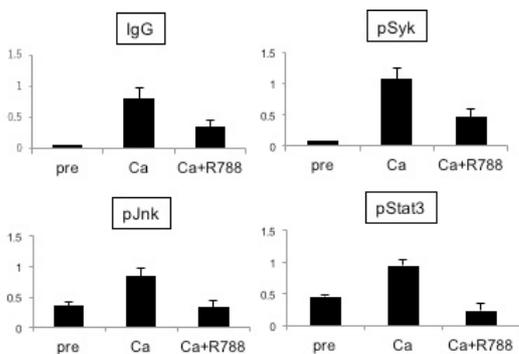


図 5. Syk 阻害薬は瘤壁の Syk、Jnk、Stat3 の活性化と IgG 沈着を抑制する。

##### (2) ヒト大動脈瘤組織

ヒト大動脈瘤培養において、免疫グロブリン投与により MMP-9 発現が増加した。ヒト病態でも免疫グロブリンが炎症促進性に瘤病態に関わることが示された(図 6)。

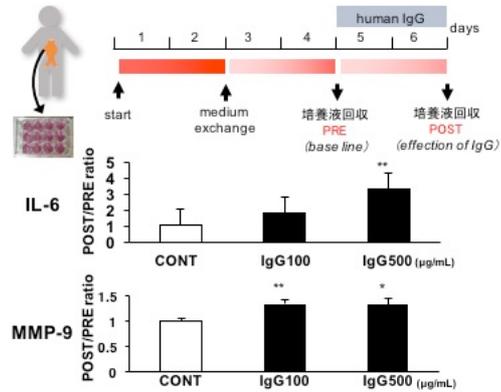


図 6. ヒト瘤組織に IgG を投与すると IL-6 分泌と MMP-9 発現が増加した。

#### 【まとめ】

以上の知見から、研究代表者は、Syk は B 細胞活性化と免疫グロブリンによる炎症活性を促進させ、瘤病態を増悪させるという結論に達した。原理的には B 細胞または免疫グロブリンは大動脈瘤の治療標的になり得るが、実臨床では現実的ではないと考える。本研究では、Syk 制御により B 細胞活性化と免疫グロブリンによる炎症促進の双方を制御することが可能であり、瘤病態を制御できる可能性を見出した。

#### 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 0 件)

1.

[学会発表] (計 3 件)

1. Aya Furusho, Hiroki Aoki, Michihide Nishihara, Satoko Ohno, Saki Hirakata, Norifumi Nishida, Sohei Ito, Makiko Hayashi, Yoshihiro Fukumoto: B cells and Immunoglobulin Promote the Development of Abdominal Aortic Aneurysm  
第 80 回日本循環器学会 (2015 年 4 月 24 日～26 日: 大阪)

2. A. Furusho, H. Aoki, M. Nishihara, S. Ohno, S. Hirakata, N. Nishida, S. Ito, M. Hayashi, H. Akashi, H. Tanaka, Y. Fukumoto: B cells promote abdominal aortic aneurysm and aortic dissection through proinflammatory function of immunoglobulins.  
ESC Congress Rome 2016, Rome, Italy, August 27-31, 2016

3. A. Furusho, H. Aoki, M. Nishihara, S. Ohno, S. Hirakata, N. Nishida, S. Ito, M.

Hayashi, Y. Fukumoto: Importance of Immunoglobulin-dependent Tissue Destruction in Abdominal Aortic Aneurysm. 第 81 回日本循環器学会学術集会 (2016 年 3 月 18~20 日 : 仙台)

〔図書〕 (計 1 件)

Aoki H, Ohno S, Furusho A, Nishihara M, Nishida N, Hirakata S, Yoshimura K (2016). Mouse Model of Abdominal Aortic Aneurysm Induced by CaCl<sub>2</sub>. Mouse Models of Vascular Diseases. M. Sata, Springer Japan: 211-226.

〔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

古荘 文 ( FURUSHO AYA )  
久留米大学・医学部・助教  
研究者番号 : 80597427

(2) 研究分担者 なし  
( )

研究者番号 :

(3) 連携研究者 なし  
( )

研究者番号 :

(4) 研究協力者  
( )