

令和 2 年 6 月 21 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10654

研究課題名(和文)細胞外基質と炎症の制御による新たな大動脈瘤治療の開発

研究課題名(英文)Development of new treatment for aortic aneurysm by controlling extracellular matrix and inflammation

研究代表者

中島 博之(NAKAJIMA, Hiroyuki)

山梨大学・大学院総合研究部・教授

研究者番号：50378634

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：大動脈瘤患者は、動脈硬化が進行しており、虚血性心疾患、脳血管障害を伴ったhigh risk症例が多い。このような症例では、術後重篤な合併症を併発するおそれがあり、できるだけ負担が少ない療法の望まれる。このような症例に対して低侵襲で有効な治療法を模索した結果、動脈瘤のTGFシグナリングを解明することにより治療法を開発することとした。このTGFは、細胞外基質の産生を増加させるが、一方でTGFは動脈硬化の病変に存在する平滑筋細胞では細胞外基質を分解するMMPなどを増加させている。そのため実際の動脈瘤化のメカニズムは複数の要因の影響で起こっていると考えられるため今後も検討していきたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食生活の欧米化、超高齢社会に伴い、大動脈疾患患者は増加傾向にある。動脈瘤治療は、現在までのところ全身麻酔が必要とされる人工血管置換かステントグラフト治療に限られる。この治療法は、高齢者にとって負担が多い治療となる。そのため、できるだけ負担が少ない治療法の開発が必要とされる。動脈硬化を進行させるメカニズムを解明しその経路の活性を抑制することが動脈瘤治療につながると考えられる。そのなかでTGFの経路を候補としこの経路のコントロールが治療につながると予測されたがさらなる検討を必要とした。

研究成果の概要(英文)：Patients with aortic aneurysm are at high risk with ischemic heart disease and cerebrovascular disease. In such cases, postoperative serious complications may occur. As a result of searching for a minimally invasive and effective treatment method for such a case, it was decided to develop a treatment method by clarifying TGF signaling of aneurysm. TGF increases the production of extracellular matrix, and on the other hand, TGF increases MMP in vascular smooth muscle cells present in arteriosclerotic lesions. Therefore, it is thought that the actual mechanism of aneurysm formation is caused by the influence of multiple factors, so further study is need

研究分野：大動脈瘤

キーワード：大動脈瘤 石灰化

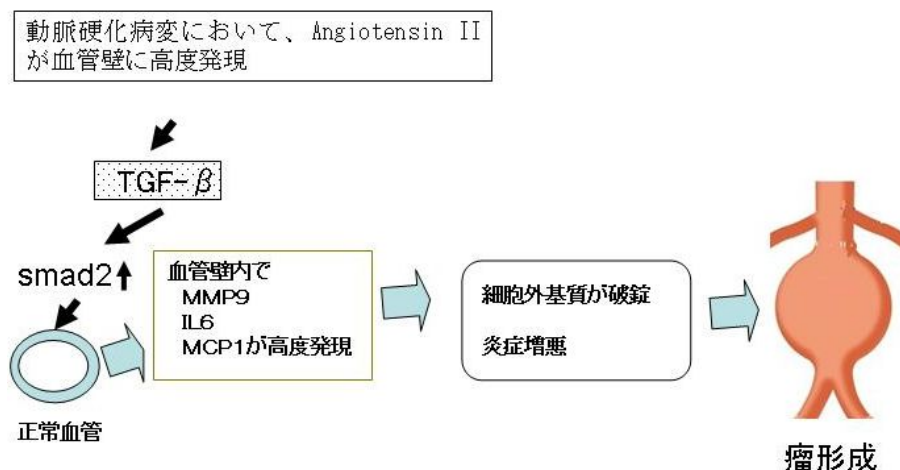
1. 研究開始当初の背景

食生活の欧米化、超高齢社会に伴い、大動脈疾患患者は増加傾向にある。特に大動脈瘤患者は、動脈硬化が進行しており、虚血性心疾患、脳血管障害を伴った high risk 症例が多い。このような症例では、術後重篤な合併症を併発するおそれがあり、できるだけ負担が少ない療法が望まれる。代表者らは、このような症例に対して低侵襲で有効な治療法を模索した結果、動脈瘤のシグナリングを解明し新たな治療法を開発することとした。

最近、DNA Microarray 法による動脈瘤の瘤壁と正常血管壁の遺伝子発現の検討が行われており、そのなかで JNK、MMP9 などの関与が報告されている。さらに、動脈瘤壁を病理学的に検討すると、動脈壁への炎症細胞の浸潤、エラスチン、コラーゲンなどのいわゆる細胞外基質が破綻し、動脈硬化をもたらしている。

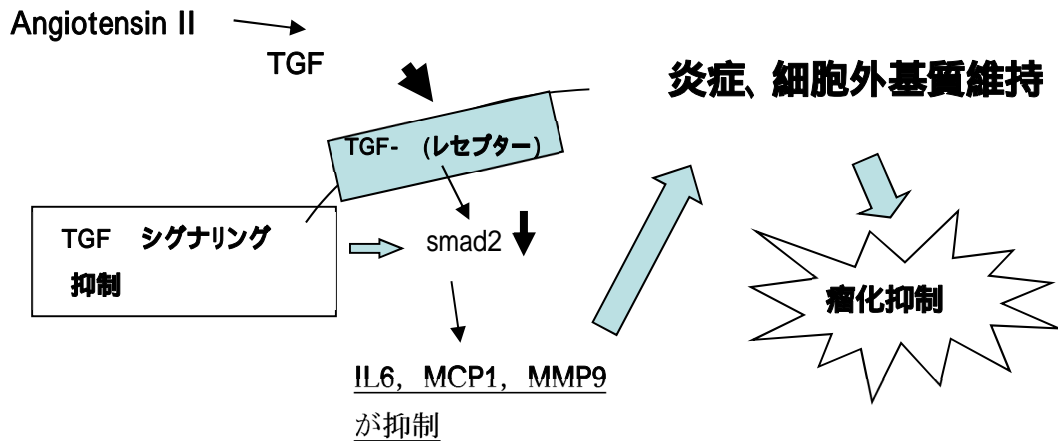
さらに、Angiotensin II や TGF の両者が動脈瘤壁内に高発現していることが認められる。この詳細にシグナリング経路を検討すると、Angiotensin II は炎症に関連する MCP-1、IL-6 をコントロールしていると報告されている。また、TGF のシグナリング伝達は smad2 と smad4 が複合体を形成し、この複合体が核内に移行し、ターゲット遺伝子である MMP9 などの転写を活性化することが知られている。さらにこの Angiotensin II は、receptor である AT1R に結合し、その下流に TGF が存在することが示されている。このことをまとめると Angiotensin II AT1R TGF smad MMP9 となることが予測される。この経路を Angiotensin II Receptor Blocker (ARB) で制御すると動脈瘤が抑制可能と報告されていることから、この smad の発現をコントロールすることにより炎症、細胞外基質の破綻を抑制し、瘤化を抑制できると推察される。

この TGF は、コラーゲン、フィブロネクチンを代表とする細胞外基質の産生を増加させるが、TGF は動脈硬化の病変に存在する平滑筋細胞だけでなく血小板、マクロファージ、内皮細胞などからも分泌されている。そのため複数のメカニズムが合わさり生じている可能性がある。



2. 研究の目的

- (1) 新たな動脈瘤化のメカニズムの解明
- (2) 細胞外基質と炎症の制御による新たな大動脈瘤治療の開発
- (3) 効率的遺伝子導入法の確立



Angiotensin II、TGF-β の signaling を block し、瘤化抑制を目指す

3. 研究の方法

In vitro の研究としてヒト大動脈由来の正常細胞を使用した

この大動脈由来の細胞に対して TGF-β の作用の確認を行った。細胞増殖に関して細胞数のカウント、細胞遊走に関しては Boyden chamber 法、アポトーシスの測定に関しては ELISA 法を利用したキットで行った。TGF-β による smad の活性化は PathScan Phospho-Smad2 を使用した。細胞の石灰化に関しては、アリザリンレッド S 染色を行い評価した

4. 研究成果

ヒト大動脈由来の正常平滑筋細胞に対して使用して行った。この細胞に対しての TGF-β の与える影響(細胞増殖、細胞遊走)についての精査を行った。TGF-β は細胞増殖、細胞遊走を抑制した。

続いて TGF-β による smad2 の活性化(リン酸化)について評価を行った。ELISA 法にて測定評価を行い活性化することを確認した

ヒト大動脈由来の正常細胞に対して Smad のシグナリング抑制を目指した。

動脈瘤モデルを作成した場合、動脈瘤の部位へ塗布する方法で遺伝子導入を計画することができるアテロコラーゲン法を用いることとした。まず、In vitro における遺伝子導入を行うこととした。アテロコラーゲン法を用いて transfection を計画したが、コントロールでの transfection の効率が低く、現在も条件設定の検討を行っている。また、動脈瘤の画像診断を詳細に観察すると、動脈硬化性の病変が強い場所に一致して石灰化を来している。また、そしてその部位に一致して内膜が特に破綻していることがわかる。動脈瘤においても動脈硬化性病変のため内膜肥厚と同様なシグナリングのメカニズムがあると予測される。そのため石灰化抑制も動脈瘤

化の抑制に働くと推察されるため、ヒト正常細胞でも石灰化をきたすか検討を行った。アリザリンレッドS染色にて TGF β が血管平滑筋細胞の石灰化を促進していた。実際の動脈瘤化のメカニズムとして複数の要因の影響で起こっていると考えられるため今後も検討していきたい。

<引用文献>

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

Kamiya K, Sakakibara K, Ryer EJ, Hom RP, Leof EB, Kent KC, Liu B.
Phosphorylation of the cyclic AMP response element binding protein mediates transforming growth factor beta-induced downregulation of cyclin A in vascular smooth muscle cells. Mol Cell Biol. 査読有、27巻、2007、3489-98.

Ryer EJ, Hom RP, Sakakibara K, Nakayama KI, Nakayama K, Faries PL, Liu B, Kent KC. PKCdelta is necessary for Smad3 expression and transforming growth factor beta-induced fibronectin synthesis in vascular smooth muscle cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 査読有、2006、780-6.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kenji SAKAKIBARA, Hiroyuki NAKAJIMA	4. 巻 25
2. 論文標題 A case of chondrosarcoma originating from the pulmonary artery	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Asian Cardiovascular and Thoracic Annals	6. 最初と最後の頁 398-399
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 榊原賢士, 中島博之, 山元 奏志, 白岩聡, 本田 義博, 葛 仁猛, 加賀 重亜喜, 鈴木 章司	4. 巻 27
2. 論文標題 腹部大動脈をアクセスルートに選択したTEVARの 検討	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本血管外科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 477-480
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 榊原 賢士, 中島 博之, 白岩 聡, 木村 光裕, 本田 義博, 加賀 重亜喜, 鈴木 章司
2. 発表標題 急性A型大動脈解離上行大動脈人工血管置換後の広範囲瘤に対する当院での治療戦略
3. 学会等名 第47回日本血管外科学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 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. 発表標題 80歳以上の腹部大動脈瘤症例のフレイル評価
3. 学会等名 第59回日本脈管学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 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. 発表標題 Marfan症候群を伴わない若年齢急性A型大動脈解離手術症例の検討
3. 学会等名 第46回日本血管外科学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 榊原 賢士, 中島 博之, 山元 奏志, 白岩 聡, 本田 義博, 葛 仁猛, 加賀 重亜喜, 鈴木章司
2. 発表標題 腹部大動脈をアクセラトとしたTEVAR症例の検討
3. 学会等名 第58回日本脈管学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	榊原 賢士 (SAKAKIBARA Kenji) (40419338)	山梨大学・大学院総合研究部・講師 (13501)	