

令和元年5月30日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19436

研究課題名(和文)リン脂質代謝を基盤とした大動脈疾患の機序解明と治療・予防法開発に向けての基盤構築

研究課題名(英文)A study of role of phospholipid metabolism in cardiovascular diseases

研究代表者

渡辺 一広 (WATANABE, Kazuhiro)

山梨大学・大学院総合研究部・臨床助教

研究者番号：50535549

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)：本研究は、リン脂質代謝酵素である細胞外分泌性ホスホリパーゼA2 (sPLA2) の心血管病における役割を解明することを目的として行われた。結果として、1) V型sPLA2は大動脈内皮細胞に高発現していること、2) アンジオテンシンII刺激に伴い、内皮細胞から分泌されたV型sPLA2が不飽和脂肪酸(特にオレイン酸、リノール酸)を産生していること、3) それに伴い大動脈壁の中膜平滑筋層におけるリシルオキシダーゼ(細胞外マトリックスを架橋して組織を安定化する酵素)の発現を促進し、アンジオテンシンII誘発性の急性大動脈解離を抑制していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性大動脈解離は循環器領域を代表する重篤で予後不良な疾患であるが、病態を反映する動物モデルがほとんどなく、発症メカニズムに迫る報告は極めて限られている。今回の研究によって、V型分泌性ホスホリパーゼA2を起点とするリン脂質代謝が急性大動脈解離を抑制する作用を有することが明らかとなった。今後、リン脂質代謝を標的とした急性大動脈解離の新たな治療・予防法の開発が期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study was aimed to examine a possible role of secreted phospholipase A2 (sPLA2) in cardiovascular diseases, and to develop a new strategy to prevent from cardiovascular diseases. As a result, group V sPLA2 is the major sPLA2 isoform expressed in aortic endothelial cells, releases oleic and linoleic acid in response to angiotensin II stimulation, and protects against acute aortic dissection in a manner dependent upon lysyloxidase-dependent extra cellular matrix stabilization.

研究分野：心血管病とリン脂質代謝

キーワード：心血管病 急性大動脈解離 リン脂質代謝 ホスホリパーゼA2

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

1. 研究開始当初の背景

リン脂質は生体膜の主要な構成要素であり、その代謝物は生理活性脂質として機能する。リン脂質代謝のボトルネック酵素である分泌性ホスホリパーゼ A2 (sPLA2) は、発現分布・基質特異性の異なる 11 種類のアイソザイムからなる。細胞外に分泌された sPLA2 は、基質となる生体膜リン脂質を加水分解して不飽和脂肪酸とリゾリン脂質を生成し、組織微小環境に生理活性脂質を動員する。

sPLA2 と心血管病に関する初期の報告として、IIA 型 sPLA2 の血中濃度が冠動脈疾患で高値を示すことが報告され (Circulation 1999) 以後 sPLA2 群による炎症促進・心血管病増悪の概念が提唱されるようになった。ところが、近年行われた急性冠症候群 (冠動脈プラーク破綻による急性心筋梗塞・不安定狭心症) 患者を対象とする大規模介入試験 (VISTA-16 試験) の結果は、事前の予想に反して汎 sPLA2 活性阻害剤が心筋梗塞再発率を悪化させるというものであった (JAMA 2014)。

汎 sPLA2 活性阻害剤で心筋梗塞再発率が悪化した大規模介入試験の結果から、これまで一律に心血管病増悪因子と考えられていた sPLA2 群の中には心血管病を抑制する sPLA2 アイソザイムが存在し、臨床的にも重要な役割を果たしていることが予想される。しかしながら、どの sPLA2 アイソザイムが、如何なる局面で、どのようなリン脂質代謝を介して心血管病を抑制するのかについての定見は得られていない。

2. 研究の目的

申請者は全 11 種類の sPLA2 遺伝子欠損マウスを用いて心血管病に関わる sPLA2 アイソザイムを網羅的に探索する独自のプロジェクトを推進し、その過程で V 型 sPLA2 遺伝子欠損マウスに大動脈解離が高率に発症することを見出した。

本研究では、リポミクス (脂質の網羅分析) を用いて、V 型 sPLA2 を起点とするリン脂質代謝が大動脈解離を抑制するメカニズムの全容を解明し、リン脂質代謝を標的とした新規の心血管病治療・予防法開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) V 型 sPLA2 遺伝子欠損マウスの動脈病変の表現型精査

定常状態における V 型 sPLA2 遺伝子欠損マウスの動脈は、組織像・遺伝子発現ともに野生型マウスと同等であるが、病態誘発刺激を加えると、V 型 sPLA2 遺伝子欠損マウスは大動脈解離および動脈硬化性プラーク破綻を高率に発症する。本研究では、病態誘導から発症に至る動脈の経時的変化を組織学的・生化学的に精査することで、大動脈解離に関わる表現型の全貌を明らかにする。

(2) リポミクス (脂質の網羅分析) による生体内の基質・責任脂質の探索

V 型 sPLA2 遺伝子欠損マウスの動脈組織および血漿のリポミクス (感度・定量性に優れた質量解析による脂質の網羅分析) を行い、野生型マウスと比較・検討することで、V 型 sPLA2 依存的に変動するリン脂質代謝経路を絞り込む。また、基質の候補は血漿中のリポタンパクまたはエキソソームのリン脂質であり、血漿からリポタンパクとエキソソームを単離して分析する。

(3) 培養細胞を用いた責任脂質の同定・作用機序の解明

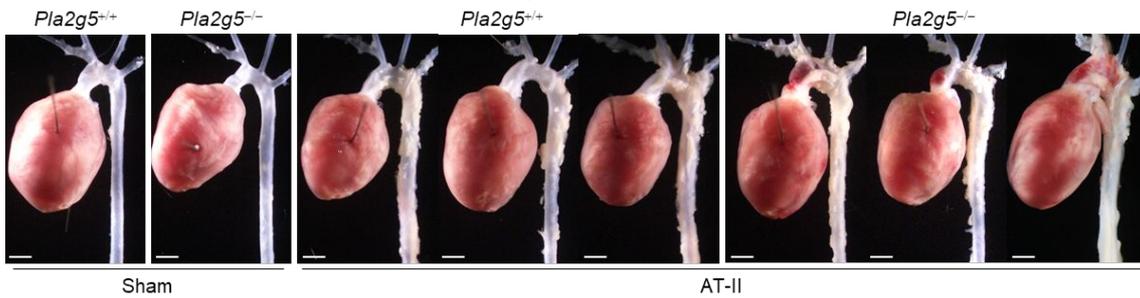
培養血管平滑筋細胞に責任脂質の候補を添加し、Lysyl oxidase の発現・活性上昇ならびに細胞外マトリックスの架橋を評価することで責任脂質を同定する。脂質の作用機序として、脂質受容体とその関連分子に着目する。以上の解析を通じて、V 型 sPLA2 依存的に動員され、大動脈壁の安定性に寄与する脂質代謝経路を特定する。

(4) 責任脂質による病態改善効果の確認

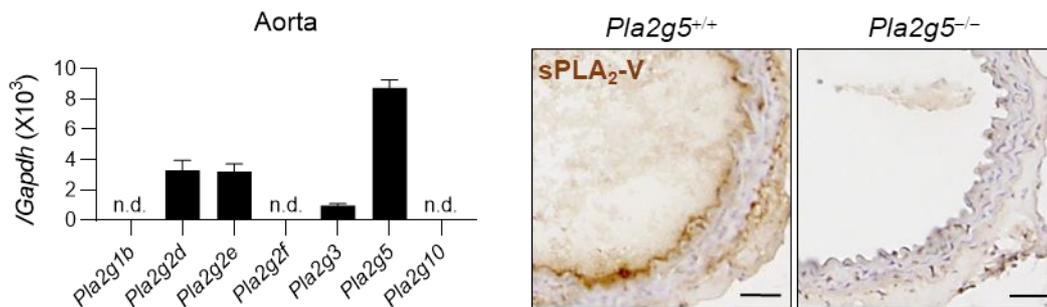
細胞実験で同定した責任脂質を V 型 sPLA2 遺伝子欠損マウスに投与し、個体レベルで心血管病が抑制されることを確認する。責任脂質が脂肪酸の場合には食餌に混ぜて経口投与する。脂質代謝物の場合にはその不安定性を考慮し、静脈内投与や腹腔内投与を検討する。既知の脂質メディエーターの場合には安定な脂質アナログ (受容体作動薬) の投与を検討する。

4. 研究成果

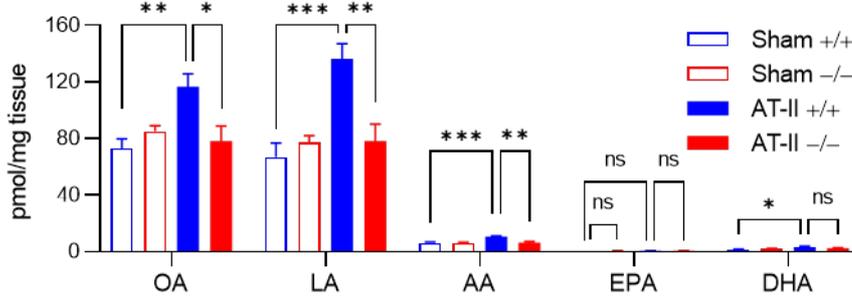
(1) V型 sPLA2 遺伝子欠損マウスで Angiotensin II 誘発性の急性大動脈解離が発症する。



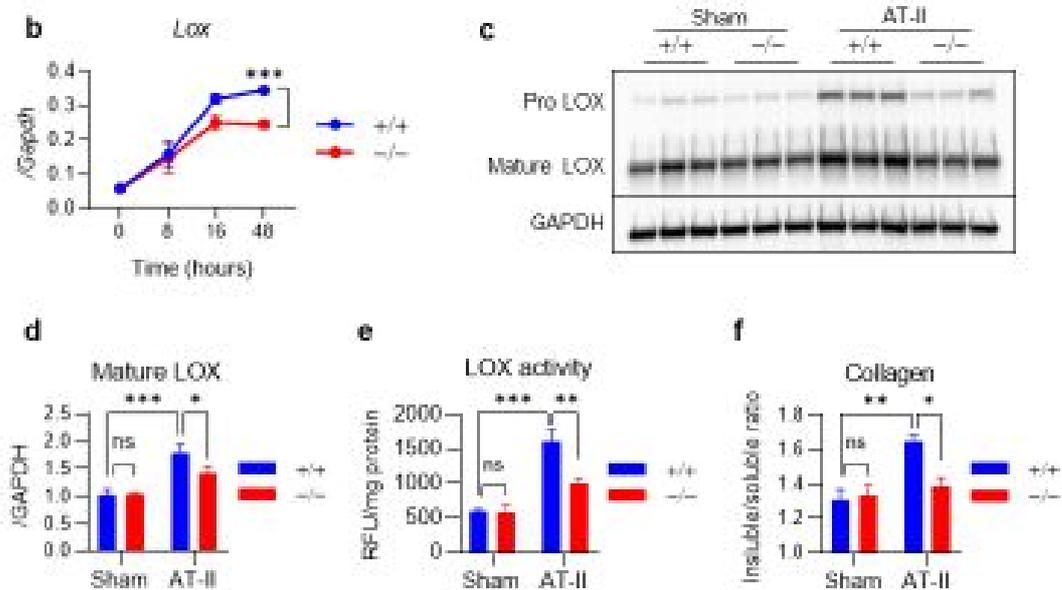
(2) V型 sPLA2 は大動脈内皮細胞に高発現する。



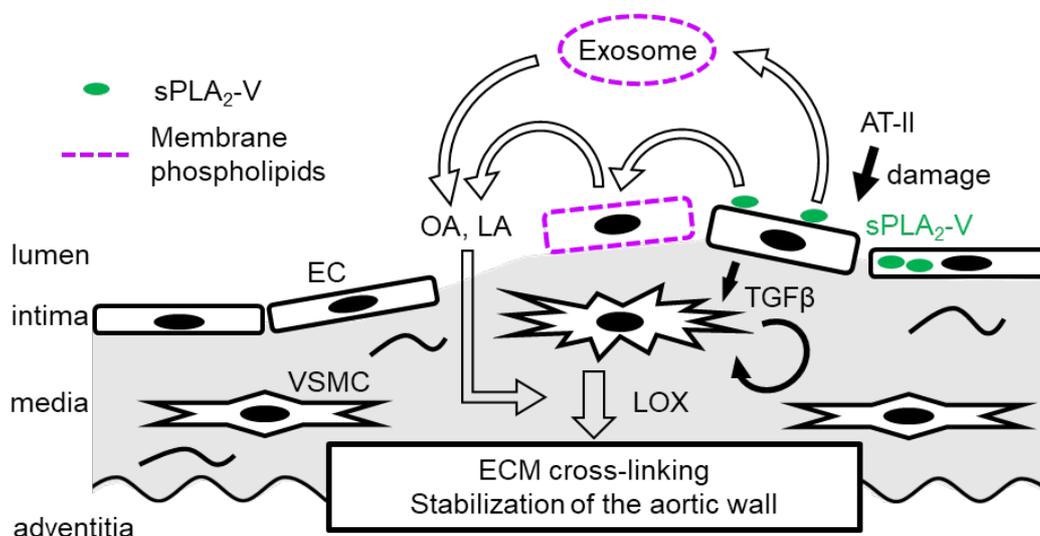
(3) 病態誘発後の V型 sPLA2 遺伝子欠損マウスで動脈組織の不飽和脂肪酸が低下している。



(4) それに伴い動脈壁の中膜平滑筋層における Lysyl oxidase (細胞外マトリクスを架橋して組織を安定化する酵素) の発現・活性が抑制されている。



以上の結果より、以下の仮説を立てている。引き続き、この仮説を実証する形で研究を進展させ、リン脂質代謝を標的とする新規の大動脈解離治療・予防法開発を目指す。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件) 以下の論文は全て査読あり。

1. High levels of stromal cell-derived factor-1 predict short-term progression of renal dysfunction in patients with coronary artery disease. Uematsu M, Nakamura T, Yoshizaki T, Watanabe Y, Deyama J, Watanabe K, Kobayashi T, Fujioka D, Saito Y, Nakamura K, Kawabata K, Obata JE, Kugiyama K. Clin Exp Nephrol. 2019 Mar 4. doi: 10.1007/s10157-019-01722-9. [Epub ahead of print]
2. Human soluble phospholipase A2 receptor is an inhibitor of the integrin-mediated cell migratory response to collagen-I. Watanabe K, Watanabe K, Watanabe Y, Fujioka D, Nakamura T, Nakamura K, Obata JE, Kugiyama K. Am J Physiol Cell Physiol. 2018 Sep 1;315(3):C398-C408. doi: 10.1152/ajpcell.00239.2017. Epub 2018 May 23.
3. Effect of coronary artery spasm on long-term outcomes in survivors of acute myocardial infarction. Deyama J, Nakamura T, Saito Y, Obata JE, Fujioka D, Nakamura K, Watanabe K, Kugiyama K. Int J Cardiol. 2018 Apr 15;257:7-11. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.08.002.
4. Angiotensin II receptor blockers suppress the release of stromal cell-derived factor-1 from infarcted myocardium in patients with acute myocardial infarction. Yoshizaki T, Uematsu M, Obata JE, Nakamura T, Fujioka D, Watanabe K, Nakamura K, Kugiyama K. J Cardiol. 2018 Apr;71(4):367-374. doi: 10.1016/j.jjcc.2017.10.002. Epub 2017 Nov 10.
5. Echolucency of the carotid artery is associated with short-term plaque progression and positive remodeling in the culprit coronary artery in AMI survivors. Futamata M, Matsuoka S, Shimizu T, Yoshizaki T, Obata JE, Nakamura T, Fujioka D, Watanabe Y, Nakamura K, Watanabe K, Kugiyama K. J Cardiol. 2017 Nov;70(5):438-445. doi: 10.1016/j.jjcc.2017.01.003. Epub 2017 Mar 7.
6. Remnant lipoproteinemia predicts cardiovascular events in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. Nguyen SV, Nakamura T, Uematsu M, Fujioka D, Watanabe K, Watanabe Y, Obata JE, Nakamura K, Kugiyama K. J Cardiol. 2017 Mar;69(3):529-535. doi: 10.1016/j.jjcc.2016.04.011. Epub 2016 May 30.

〔学会発表〕(計 0 件)

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。