

令和 2 年 9 月 9 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10761

研究課題名(和文) 大動脈瘤化および大動脈解離発生のメカニズム解明と予防治療の確立

研究課題名(英文) Establishment of prophylactic treatment for aortic disease form analyzing the mechanism of aortic aneurysmal formation and aortic dissection

研究代表者

鈴木 伸一 (SUZUKI, SHINICHI)

横浜市立大学・附属病院・准教授

研究者番号：90285130

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：腹部大動脈瘤(AAA)拡大を予防する薬物療法は存在しない。我々は、PGE2レセプター-EP4がAAA拡大に関与している事を報告した。今回は、選択的EP4拮抗剤のCJ-42794が、アンジオテンシンIIとcalcium chloride (CaCl₂)により誘発される2つのマウスAAAモデルで大動脈瘤化を予防する結果を得た。また、人の腹部大動脈瘤壁から分離した平滑筋細胞の実験では、CJ-42794はPGE2に誘導されるIL-6の分泌を濃度依存的に抑制し、PGE2に誘導されるMMP-2活性も抑制した。これらの結果からEP4拮抗剤は大動脈瘤化を抑制する薬剤治療となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大動脈疾患の患者数は年々増加しており生命にかかわる重症疾患である。大動脈瘤化や大動脈解離発症のメカニズムの解明や、予防法や早期介入を含めた治療法の確立は、医学的に大きな意義がある。

研究成果の概要(英文)：No effective pharmacological therapy to attenuate AAA progression is currently available. We reported that the prostaglandin E receptor EP4 plays roles in AAA progression.

Here, we show the effect of CJ-42794, a selective EP4 antagonist, on AAA using two mouse models (angiotensin II- and CaCl₂-induced AAAs). CJ-42794 prevented aneurysmal formation of the two mouse models.

Additionally, in smooth muscle cells isolated from human AAA tissues, stimulation of CJ-42794 inhibited PGE2-induced IL-6 secretion in a dose-dependent manner and decreased PGE2-induced MMP-2 activity. These data suggest that inhibition of EP4 has the potential to be a pharmacological strategy for attenuation of AAA progression.

研究分野：医学

キーワード：大動脈瘤 プロスタグランジンE2 アンジオテンシンII calcium chloride

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)近年高齢化に伴い大動脈関連の手術数は年々増加し年間約 31000 例に達している。大動脈疾患の大半は加齢とともに大動脈硬化が進行することが原因とされる。しかし、加齢によりすべての人が動脈疾患を発症するわけではなく、限定された人においてのみ大動脈の瘤化や解離が発生する。この大動脈疾患発生のメカニズム・要因については、多くの研究がなされているが、今のところ全ては解明されていない。

(2)このメカニズムに動脈壁の中膜弾性線維の異常が関与している可能性が高く、我々はこの分野の研究を 2010 年よりすすめた。

2. 研究の目的

(1)大動脈瘤化や大動脈解離発生の原因を明らかにすることで、これに対する予防的治療の開発を研究の目的とする。

(2)我々のこれまでの研究で、プロスタグランジン E2 の EP4 シグナル発現と弾性線維の劣化が、大動脈瘤部分でより強く発生しているのを報告した。今回はこの拮抗が動脈瘤化にたいする効果を検討した。

3. 研究の方法

アンジオテンシン II と calcium chloride (CaCl₂)によって誘発される 2 つのマウス AAA モデルと、AAA 組織から分離したヒト大動脈平滑筋細胞を用いる二つの方法で検討した。

(1)マウスモデル

雄 ApoE^{-/-}マウス (5 - 6 週) にアンジオテンシン II (1 μg/kg/min) を 4 週間投与と雄 wild-type (C57BL/6) (5-6 週) のマウスの大動脈周囲に 0.5M CaCl₂ を投与して AAA を作成した。

(2)人モデル

外科手術で摘出した腹部大動脈瘤組織から分離した平滑筋細胞を使用した。

4. 研究成果

(1)アンジオテンシン II (1 μg/kg/min) を投与した ApoE^{-/-}マウスの AAA 形成を、CJ-42794 (0.2mg/kg/日) の経口投与は著明に予防した。これは、弾性線維の劣化とマトリックス・メタロプロテイナーゼ (MMP) -2 と MMP9 の活性化を抑制した (Fig1)。

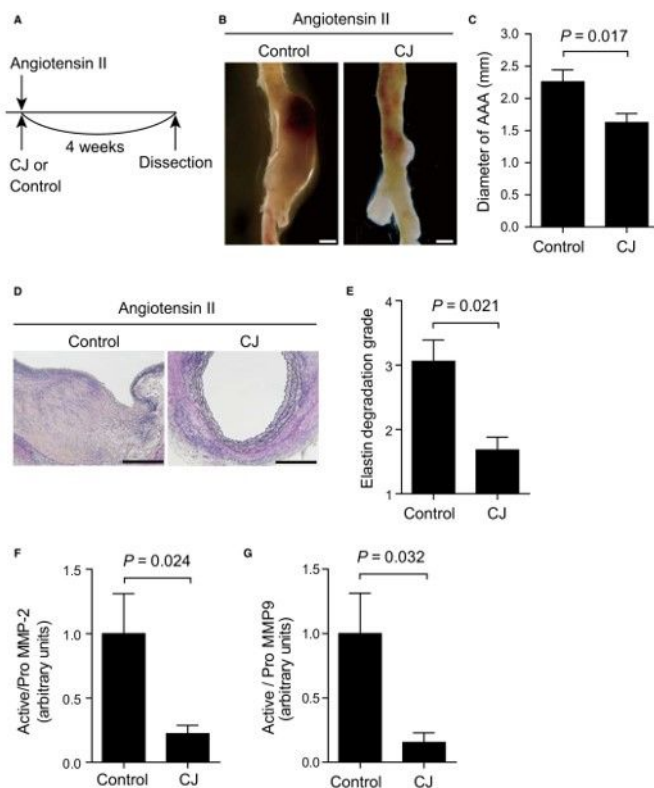


Figure 1. A selective EP4 antagonist CJ-42794 attenuated angiotensin II-induced AAA. (A) Time-course of angiotensin II infusion and CJ-42794 treatment. (B) Representative images of the abdominal aorta from control and CJ-42794-treated (0.2 mg/kg per day) groups (Control and CJ, respectively). Scale bars, 1 mm. (C) Quantification of maximum external diameter of angiotensin II-induced AAA in ApoE^{-/-} mice. n = 5 (Control) and 6 (CJ). (D) Representative elastica van Gieson stain images of transverse section of angiotensin II-induced AAA. Scale bars, 200 μm. (E) Medial elastic fiber degradation was graded using an arbitrary scale from grade 1 to grade 4. n = 5 (Control) and 6 (CJ). (F and G) Quantification of MMP-2 and MMP-9 activation in mouse AAA tissues measured using gelatin zymography. n = 5 (Control) and 6 (CJ). The data were obtained from two independent experiments.

(2)インターロイキン-6 (IL-6) タンパク質はアンジオテンシン II によって誘発されたマウス AAA 組織の高く発現したが、CJ-42794 を投与したマウスでは、これは著明に抑制された (Fig2)。

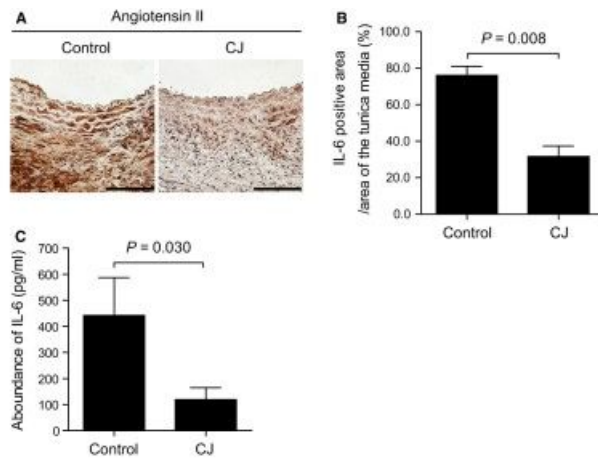


Figure 2. The effect of CJ-42794 on IL-6 protein expression in angiotensin II-induced AAA. (A) Immunohistochemistry for IL-6 in angiotensin II-induced AAA treated with or without CJ-42794 (CJ and Control, respectively). A brown color indicates a positive immunoreaction for IL-6. Scale bar, 100 μ m. (B) Quantification of positive immune-reactive area for IL-6 proteins in the tunica media of **A**. $n = 5$ (Control) and 6 (CJ). (C) Quantification of IL-6 proteins in mouse AAA using ELISA. $n = 5$ (Control) and 6 (CJ). The data were obtained from two independent experiments.

(3) wild-type (C57BL/6) マウスの大動脈周囲に CaCl_2 投与することで誘発される AAA 形成も、4 週間の CJ-42794 の経口投与によって抑制できた。大動脈周囲 CaCl_2 投与後、CJ-42794 を最初の 2 週間、もしくは更に 4 週間経口投与すると、大動脈径の拡大と弾性繊維の劣化は、CJ-42794 治療マウスで無処置のマウスに比較して著明に抑制された (Fig3)。

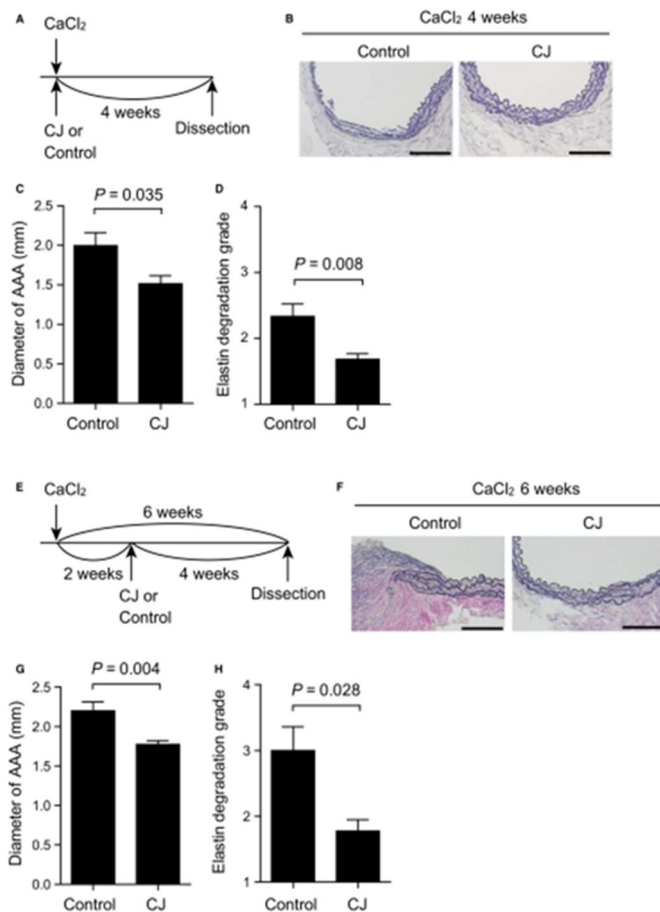


Figure 3. CJ-42794 decreased CaCl_2 -induced AAA formation. (A) Time-course of CaCl_2 application and CJ-42794 treatment for (B-D) CJ-42794 administration began at the same day as CaCl_2 application and continued for 4 weeks (CaCl_2 4 weeks). (B) Representative elastica van Gieson stain images of the traverse section of AAA 4 weeks after CaCl_2 application. Vehicle (control) and CJ-42794 (CJ)-treated mice are shown. Scale bars, 100 μ m. (C) Quantification of maximum external diameter of AAA 4 weeks after CaCl_2 application. $n = 9$ (Control) and 10 (CJ). (D) Medial elastic fiber degradation of mouse AAA 4 weeks after CaCl_2 application was graded using an arbitrary scale from grade 1 to grade 4. $n = 9$ (Control) and 10 (CJ). (E) Time-course of CaCl_2 application and CJ-42794 treatment for (F-H). CJ-42794 administration began 2 weeks after CaCl_2 application and continued for additional 4 weeks (CaCl_2 6 weeks). $n = 5-6$. (F) Representative elastica van Gieson stain images of traverse section of AAA 6 weeks after CaCl_2 application. Scale bars, 100 μ m. (G) Quantification of the maximum external AAA diameter 6 weeks after CaCl_2 application. $n = 5$ (Control) and 6 (CJ). (H) Medial elastic fiber degradation of mouse AAA 6 weeks after CaCl_2 application was graded the same as in D. $n = 5$ (Control) and 6 (CJ). The data were obtained from three independent experiments.

4) ヒト AAA 組織から分離した平滑筋細胞において、CJ-42794 は、PGE2 により誘発される IL-6 の分泌を容量依存性に抑制 (Fig4-A) し、PGE-2 に誘発される MMP-2 活性も減少させた (Fig4-C)。

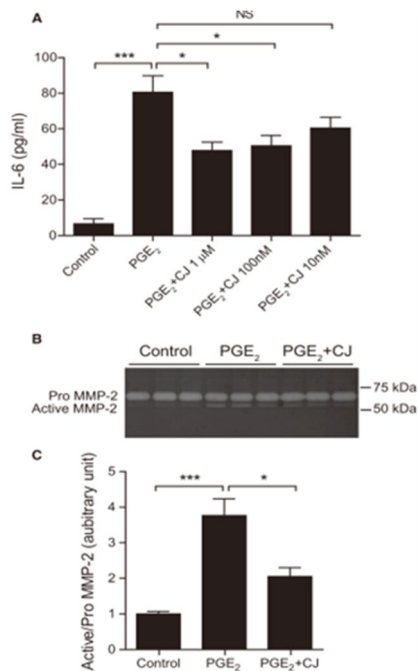


Figure 4. The effect of CJ-42794 on IL-6 production and MMP-2 activation in human aortic smooth muscle cells isolated from AAAs. (A) IL-6 production in hAASMCs treated with PGE₂ (1 μM) in the presence or absence of CJ-42794 for 6 h was measured by ELISA. Data were obtained from three independent experiments using hAASMCs isolated from three individuals with AAA. *n* = 9, **P* < 0.05; ****P* < 0.001; NS, not significant. (B) Representative images of gelatin zymography. hAASMCs were treated with PGE₂ (1 μmol/L) or PGE₂ + CJ-42794 (1 μmol/L) for 48 h. (C) Quantification of MMP-2 activation in B. Data were obtained from three independent experiments using hAASMCs isolated from three individuals with AAA. *n* = 9, **P* < 0.05; ****P* < 0.001; NS, not significant.

引用文献

1) Mamun A, Yokoyama U, Saito J, Ito S, Hiromi T, Uemura M, Fujita T, Yasuda S, Minami T, Goda M, Uchida K, Suzuki S, Masuda M, Ishikawa Y.: A selective antagonist of prostaglandin E receptor subtype 4 attenuate abdominal aortic aneurysm. *Physiological Reports* 2018, 6 (18), e13876. <https://doi.org/10.14814/phy2.13878e13878>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Hashiyama N, Goda M, Uchida K, Isomatsu Y, Suzuki S, Mo M, Nishida T, Masuda M	4. 巻 13
2. 論文標題 Stanford type B aortic dissection is more frequently associated with coronary artery atherosclerosis than type A	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Cardiothoracic Surgery	6. 最初と最後の頁 80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13019-018-0765-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Mamun A, Yokoyama U, Saito J, Ito S, Hiromi T, Umemura M, Fujita T, Yasuda S, Minami T, Goda M, Uchida K, Suzuki S, Masuda M, Ishikawa Y	4. 巻 18
2. 論文標題 A selective antagonist of prostaglandin E receptor subtype 4 attenuate abdominal aortic aneurysm	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e13878
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) org/10.14814/phy2.13878e13878	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yasuda S, Goda M, Shibuya T, Uchida K, Suzuki S, Noishiki Y, Yokoyama U, Ishikawa Y, Masuda M	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 An appropriately sized soft polyester external stent prevents enlargement and neointimal hyperplasia of a saphenous vein graft in a canine model	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Artif Organs	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.111/aor.13399	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yokoyama U, Arakawa N, Ishikawa R, Yasuda S, Minami T, Goda M, Uchida K, Suzuki S, Matsumoto M, Koizumi N, Taguri M, Hirano H, Yoshimura K, Ogino H, Masuda M, Ishikawa Y	4. 巻 315
2. 論文標題 Proteomic analysis of aortic smooth muscle cell secretions reveals an association of myosin heavy chain 11 with abdominal aortic aneurysm	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Physiol Heart Circ Physiol	6. 最初と最後の頁 H1012-H1018
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpheart.00329	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Keiji, Karube Norihisa, Minami Tomoyuki, Cho Tomoki, Matsuki Yusuke, Nemoto Hiroko, Yabu Naoto, Yasuda Shota, Suzuki Shinichi, Masuda Munetaka	4. 巻 66
2. 論文標題 Treatment of coronary malperfusion in type A acute aortic dissection	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 General Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 621 ~ 625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11748-018-1014-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Keiji, Karube Norihisa, Kasama Keiichiro, Minami Tomokazu, Yasuda Shota, Goda Motohiko, Suzuki Shinichi, Imoto Kiyotaka, Masuda Munetaka	4. 巻 156
2. 論文標題 Early reperfusion strategy improves the outcomes of surgery for type A acute aortic dissection with malperfusion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 483 ~ 489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtcvs.2018.02.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計7件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 鈴木伸一、益田宗孝、磯松尚幸、郷田素彦、町田大輔、富永訓央、澁谷泰介
2. 発表標題 マルファン類似疾患の胸腹部大動脈瘤(Safi分類I型)に対する人工血管置換術
3. 学会等名 第48回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木伸一
2. 発表標題 急性A型大動脈解離 ; 生体糊による基部断端形成
3. 学会等名 第25回大動脈シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木伸一
2. 発表標題 大動脈疾患に対する外科手術
3. 学会等名 九州医療センタ - 地域医療研修セミナー - (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木伸一、益田宗孝、磯松尚幸、郷田素彦、町田大輔、富永訓央、澁谷泰介
2. 発表標題 Bentall型大動脈基部置換術の成績：Couduit中枢吻合部出血予防と冠動脈再建法の工夫
3. 学会等名 第58回日本脈管学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木伸一、益田宗孝、磯松尚幸、郷田素彦、町田大輔、富永訓央、澁谷泰介
2. 発表標題 Malperfusion (脳、冠動脈、上腸間膜動脈、下肢) を伴う急性A型大動脈解離 (AADA) に対する上行弓部置換術の1例. ビデオシンポジウム9. 大動脈瘤手術での起死回生の一手
3. 学会等名 第79回日本臨床外科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木伸一、益田宗孝、磯松尚幸、郷田素彦、町田大輔、富永訓央、澁谷泰介、遠藤和也、森佳織
2. 発表標題 感染性胸部弓部大動脈瘤に対し上行弓部大動脈置換、大網充填を一期的に施行した1例
3. 学会等名 第49回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木伸一
2. 発表標題 感染性弓部大動脈瘤に対する人工血管置換術；大網充填の有用性
3. 学会等名 第26回大動脈シンポジウム
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 鈴木伸一	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 158
3. 書名 胸部外科	

〔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	益田 宗孝 (MASUDA MUNETAKA) (10190365)	横浜市立大学・医学研究科・教授 (22701)	
研究分担者	内田 敬二 (UCHIDA KEIJI) (50275062)	横浜市立大学・附属市民総合医療センター・診療教授 (22701)	
研究分担者	横山 詩子 (YOKOYAMA UTAKO) (70404994)	東京医科大学・医学部・主任教授 (32645)	