

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 2 年 9 月 8 日現在

機関番号：87502

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16397

研究課題名（和文）DNAメチル基転移酵素DNMT1をターゲットとした大動脈瘤治療薬の創薬研究

研究課題名（英文）Suppressing abdominal aortic aneurysm formation with DNMT1 inhibitor

研究代表者

井上 健太郎（Inoue, Kentaro）

独立行政法人国立病院機構別府医療センター（臨床研究部）・臨床研究部・心臓血管外科医師

研究者番号：20801658

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000 円

研究成果の概要（和文）：近年、種々の疾患の治療のターゲットとして、遺伝子配列の変化を伴わない遺伝子発現調節機構であるエピゲノムが注目されている。エピゲノムは動脈硬化の進行にも寄与することが知られている。本研究は、エピゲノムをターゲットとした動脈瘤の薬物療法の開発を目的とした。本研究では、血管平滑筋細胞に対するコレステロール負荷による動脈硬化誘導モデルと健常モデルと動脈硬化モデルのDNAのメチル化、ヒドロキシメチル化の差異の有無を全ゲノムシーケンスを用いて比較したが、その差は明確ではなかった。コレステロール負荷による血管平滑筋細胞の脱分化機構におけるエピゲノムの機構解明には更なる研究が必要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、まずヒト血管平滑筋細胞に対するコレステロール負荷による動脈硬化誘導モデルを確立し、血管平滑筋細胞の動脈硬化形成時の脱分化のプロセスを明らかにした。加えて、この脱分化時における血管平滑筋細胞のエピゲノム変化（DNAのメチル化及びヒドロキシメチル化の変化）を、全ゲノムシーケンスを用いて網羅的に評価した。この血管平滑筋細胞の脱分化機構は、動脈瘤・心筋梗塞・脳梗塞といった多くの致死性の疾患の原因である動脈硬化の形成に寄与する。動脈硬化の病態解明におけるエピゲノム機構の評価は、エピゲノムをターゲットとした動脈硬化治療薬の創生に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In recent years, epigenetics, which is a mechanism for regulating gene expression without altering gene sequences, has attracted attention as a target for treatment of various diseases. Then, epigenome is known to contribute to the progression of arteriosclerosis. The purpose of this study was to develop a drug therapy for aneurysms targeting the epigenome. In this study, we compared the DNA methylation and hydroxymethylation levels in the arteriosclerosis induction model by cholesterol loading on vascular smooth muscle cells using whole genome sequencing; however, the difference between the models was unclear. Further studies are required to elucidate the epigenetic mechanism of dedifferentiation of vascular smooth muscle cells due to cholesterol loading.

研究分野：血管外科学

キーワード：エピゲノム 動脈硬化

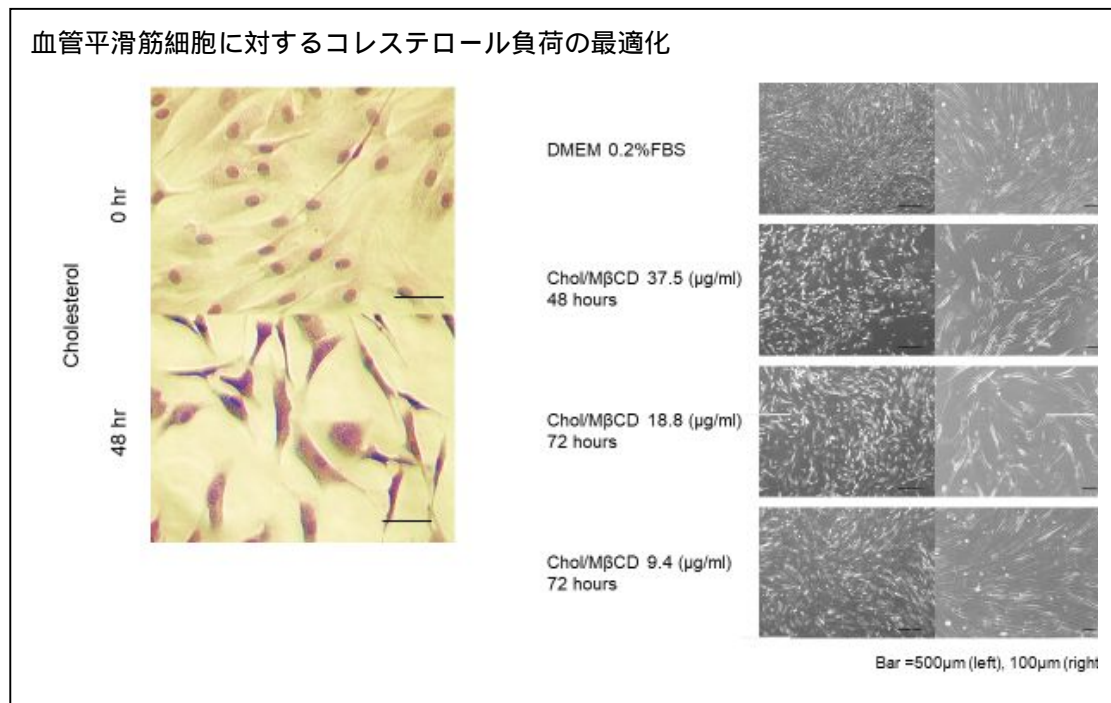
科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

### 1. 研究開始当初の背景

胸部・腹部大動脈瘤は破裂すると致命的な疾患であるが、動脈瘤増大の病勢進行の抑制に寄与する治療薬は未だ開発されていない。近年、白血病を中心とした悪性腫瘍に対する抗がん薬物療法のターゲットとして、遺伝子配列の変化を伴わない遺伝子発現調節機構であるエピゲノムが注目されている。エピゲノムは動脈硬化の進行にも寄与することが知られている。エピゲノムの中でも DNA のメチル化・脱メチル化機構が、血管壁が受ける shear stress や血管平滑筋細胞の病的脱分化に寄与していることが最新の研究で明らかになっており、特に動脈硬化・動脈瘤病変では正常組織よりも DNA の高メチル化状態となることが知られている。動脈硬化実験におけるモデルとしては、細胞レベルでは各種細胞に対するコレステロール負荷、マウスレベルは APOE ノックアウトによるコレステロール代謝障害の誘導が知られている。細胞及びマウスレベルでのコレステロール負荷モデルにおける動脈硬化誘導時のエピゲノム変化およびその病態抑制に対するエピゲノム治療薬の意義は明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

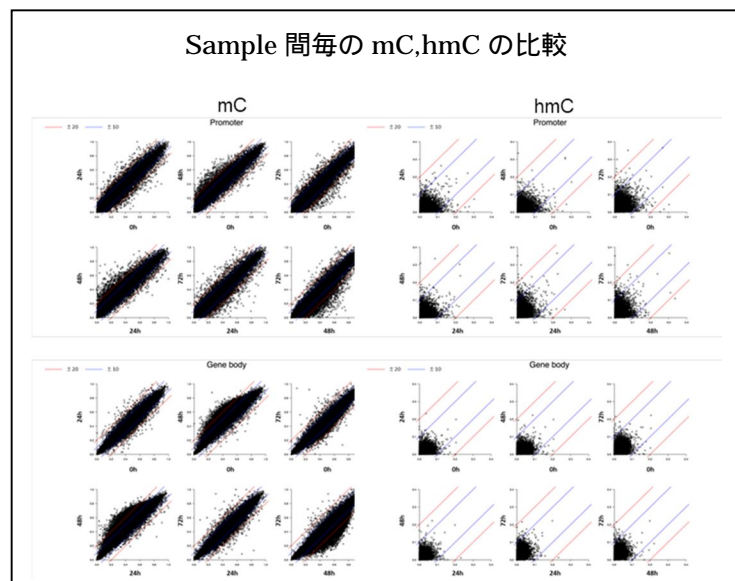
本研究は、DNA のメチル化抑制が動脈瘤進行を抑制することを明らかにし、エピゲノムをターゲットとした全く新しい動脈瘤の薬物療法の開発を目的とした。



### 3. 研究の方法

2018 年度、我々は本研究のはじめとして、In vitro における血管平滑筋細胞を用いた動脈硬化モデルを作成し、その分子生物学的機序とエピゲノム変化の関連を評価した。血管平滑筋細胞に対するコレステロール負荷モデルの作成において、コレステロール負荷濃度及び暴露時間の最適化を行い、種々の条件により結果が大きく左右されることを明らかとし、本実験のための負荷濃度及び暴露時間の条件の最適化を行った(上図参照)。その結果、72 時間以上の負荷により、細胞の生存維持状態の継続がお困難となることが明らかとなり、0-72 時間内での細胞レベルの変化を評価することとした。

2019 年度、血管平滑筋細胞の健常モデルと動脈硬化モデルの総 DNA 量レベルでエピゲノム(DNA のメチル化、ヒドロキシメチル化)の変化を評価するべく、全ゲノムシーケンスを



様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9（共通）

実施した。

#### 4．研究成果

各遺伝子の Gene body 及び Promoter 領域のメチル化、ヒドロキシメチル化のコレステロール負荷後の経時的変化は乏しかった（下図参照）。また、遺伝子発現の変化との相関は明確ではなかった。コレステロール負荷による血管平滑筋細胞の脱分化機構におけるエピジェネティクスの機構解明には更なる研究が必要であると考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----