

平成 21 年 5 月 7 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007 年度 ～ 2008 年度
 課題番号：19590851
 研究課題名（和文） G-CSF の動脈硬化に対する進展抑制作用の検討と、その機序の解明
 研究課題名（英文） The mechanisms of the inhibitory effect of G-CSF on the progression of atherosclerosis
 研究代表者
 氏名（ローマ字）：長谷川 洋（Hiroshi Hasegawa）
 所属機関・部局・職：千葉大学・大学院医学研究院・助教
 研究者番号：50375656

研究成果の概要：

造血性サイトカインである G-CSF は心筋保護作用を有し、新規心筋梗塞治療薬として期待しうることを、既に我々は報告している。一方、心筋梗塞患者は動脈硬化を合併している可能性が高いことから、G-CSF による動脈効果に対する作用について検討した。G-CSF は動脈硬化進展抑制作用を要することがウサギおよびマウス動脈硬化モデルにおいて認められたため、そのメカニズムについて、主に免疫・炎症系の関与について焦点を当てて、遺伝子改変マウスモデルを用いて詳細に検証した。

交付額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-------------|-------------|-------------|
| 2007 年度 | 1,800,000 円 | 540,000 円 | 2,340,000 円 |
| 2008 年度 | 1,700,000 円 | 510,000 円 | 2,210,000 円 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 円 | 1,050,000 円 | 4,550,000 円 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：動脈硬化，G-CSF，サイトカイン治療，内皮障害

1. 研究開始当初の背景

造血性サイトカインである G-CSF は心筋保護作用を有し、新規心筋梗塞治療薬として期待しうることを、すでに我々は報告している（Ohtsuka M, et al. Cytokine therapy prevents left ventricular remodeling and dysfunction after myocardial infarction through neovascularization. *FASEB J.* 2004;18:851-3. Harada M, et al.

G-CSF prevents cardiac remodeling after myocardial infarction by activating the Jak-Stat pathway in cardiomyocytes. *Nat Med.* 2005;11:305-11. Hasegawa H, et al. Cardioprotective effects of granulocyte colony-stimulating factor in swine with chronic myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47:842-9. Iwanaga K, et al. Effects of G-CSF on cardiac remodeling after acute

myocardial infarction in swine. **Biochem Biophys Res Commun.** 2004;325:1353-9.)。一方、心筋梗塞患者は動脈硬化を合併している可能性が高く、G-CSF を心筋梗塞治療薬として用いるためには、動脈硬化に対する作用の検証が重要である。我々はウサギを用いた研究において、G-CSF は動脈硬化に対して、進展を抑制する結果を報告している (Hasegawa H, et al. G-CSF prevents the progression of atherosclerosis and neointimal formation in rabbits. **Biochem Biophys Res Commun.** 2006;344:370-6.) が、そのメカニズムについては不明のままである。

2. 研究の目的

G-CSF の虚血性心疾患に対する新たな治療方法の確立に当たって、合併する動脈硬化巣に対する影響とそのメカニズムについて検証する。

3. 研究の方法

ウサギ動脈硬化病変 (血管障害モデルおよび高脂血症モデル) に対して、G-CSF の効果を詳細に検証する。さらに、G-CSF の動脈硬化病変に対する効果のメカニズムについて、遺伝子改変マウスを用いたマウスモデルで検証する。

4. 研究成果

高脂血症動脈硬化モデルである WHHL-MI ウサギモデルにおいて、G-CSF は冠動脈病変においても大動脈病変においても動脈硬化病変の進展を抑制し、白血球増加作用を有するにも関わらず、動脈硬化病変におけるプラーク構成成分 (脂質、血管平滑筋、線維化病

変) の比率も変化させなかった。また、血清脂質、凝固系への影響も認められなかった。さらに、バルーンによるウサギ総腸骨内皮傷害モデルにおいても、動脈硬化の指標である血管内膜/中膜比の改善が認められ、また、再内皮化が更新していた。この効果は NO 阻害薬で抑制されることから血管内皮前駆細胞の動員を介している可能性が強く示唆された。

引き続き、マウスモデルにおいても、ウサギモデル同様に、高脂血症動脈硬化発症モデルである ApoE ノックアウトマウスにおいても、G-CSF 投与によって、血清脂質は変化させないが、大動脈基部での動脈硬化面積を縮小させた。また、金属ワイヤによる血管内皮細胞擦過による血管障害モデルを確立したが、そのマウス wire injury model においても G-CSF 投与によって傷害血管部位のプラーク量の低下を認めた。

動脈硬化の病態に炎症系が関与していることは広く知られており、従来のマクロファージに加えて、T 細胞の関与が明らかになってきていることから、この点を検証した。G-CSF の投与によって、野生型マウスにおいても、リンパ節および脾臓での CD4⁺CD25⁺ regulatory T 細胞数が増加した。G-CSF は、動脈硬化巣において CD4 陽性 helper T 細胞やマクロファージ数は変化させないが、FOXP3 陽性 regulatory T 細胞数を 1.8 倍程度増加させた。また、動脈硬化巣における炎症抑制性サイトカイン IL-10 の濃度を 2 倍程度まで亢進させ、また、動脈壁における IL-10 遺伝子発現を亢進 (1.5-2.0 倍程度) させた。さらに、regulatory T 細胞抑制効果を有する PC-61 抗体前投与によって、G-CSF による動脈硬化進展抑制作用は抑制されることから、G-CSF による動脈硬化進展抑制作用は regulatory T 細胞を介していることが示唆された。

以上より, G-CSF は白血球増加作用を有し血管粘稠度を高めることから動脈硬化については増悪作用を有する可能性は否定され, いずれのモデルにおいても動脈硬化の進行を抑制する作用を有することが明らかとなったため, G-CSF の動脈硬化進展抑制作用について, リンパ球 T 細胞の組成, 特に, regulatory T 細胞の増加を介していることが示唆されたことから, regulatory T 細胞系の抑制された遺伝子改変マウスを用いて, その関与と関連する分子メカニズムについて, これを検証している。

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 8 件)

1. Odaka K, Uehara T, Arano Y, Adachi S, Tadokoro H, Yoshida K, Hasegawa H, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Hiroe M, Irie T, Tanada S, Komuro I. Noninvasive detection of cardiac repair after acute myocardial infarction in rats by 111 In Fab fragment of monoclonal antibody specific for tenascin-C. *Int Heart J*. 49: 481-492, 2008. (査読有り)
2. 長谷川洋, 小室一成 虚血性心疾患に対するサイトカイン治療 総合臨床 2008 Vol.57, No.2, p236-241. (査読無し)
3. 高野博之 サイトカインによる急性心筋梗塞治療は有用か? 専門医のための薬物療法 Q&A 循環器 166, 2008. (査読無し)
4. 高野博之 急性心筋梗塞に対する G-CSF 治療 ICU と CCU 31: 823-832, 2008. (査読無し)
5. 高野博之 造血性サイトカイン (G-CSF) による心筋梗塞治療 Medical View Point 29: 5, 2008. (査読無し)
6. 高野博之, 小室一成 急性心筋梗塞に対す

る G-CSF 治療の臨床研究 - 現状と問題点

Annual Review 循環器 136-143, 2008. (査読無し)

7. Takano H, Hasegawa H, Kuwabara Y, Nakayama T, Matsuno K, Miyazaki Y, Yamamoto M, Fujimoto Y, Okada H, Okubo S, Fujita M, Shindo S, Kobayashi Y, Komiyama N, Takekoshi N, Imai K, Himi T, Ishibashi I, Komuro I. Feasibility and safety of granulocyte colony-stimulating factor treatment in patients with acute myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* 122: 41-7, 2007. (査読有り)

8. Takano H, Ueda K, Hasegawa H, Komuro I. G-CSF therapy for acute myocardial infarction. *Trends Pharmacol Sci.* 28: 512-7, 2007. (査読有り)

[学会発表](計 6 件)

International Conference of Geriatric Emergency & Critical Care (2008/12/13, Taipei)

1. Hiroshi Hasegawa, Issei Komuro: Acute care for cardiovascular ischemia.

2008 5th Annual Symposium of the American Heart Association Council on Basic Cardiovascular Sciences (Keystone, CO)

2. Kazutaka Ueda, Hiroyuki Takano, Yuriko Niitsuma, Hiroshi Hasegawa, Raita Uchiyama, Issei Komuro Erythropoietin prevents cardiac remodeling after myocardial infarction through erythropoietin receptor-induced signaling pathways in cardiomyocytes

3. Raita Uchiyama, Hiroyuki Takano, Kazutaka Ueda, Yuriko Niitsuma, Hiroshi Hasegawa, Issei Komuro Erythropoietin promotes angiogenesis and prevents heart failure after myocardial infarction

**第 72 回日本循環器学会学術集会(福岡 : 2008
年 3 月 28-30 日)**

4. Hiroyuki Takano, Issei Komuro: G-CSF therapy for acute myocardial infarction: From animal experiments to clinical trials.

5. Hiroshi Hasegawa, Hiroyuki Takano, Kazutaka Ueda, Raita Uchiyama, Issei Komuro: Myocardial Protection Strategy after Reperfusion Therapy in Acute Coronary Syndrome Cytokine therapy for myocardial infarction – G-CSF and erythropoietin –

2007 Annual Symposium of the American Heart Association scientific sessions (Orlando, FL)

6. Kazutaka Ueda, Hiroyuki Takano, Yuriko Niitsuma, Hiroshi Hasegawa, Raita Uchiyama, Issei Komuro: Erythropoietin prevents cardiac remodeling after myocardial infarction through erythropoietin receptor-induced signaling pathways in cardiomyocytes

〔 図書 〕 (計 0 件)

〔 産業財産権 〕

○ 出願状況 (計 0 件)

○ 取得状況 (計 0 件)

〔 その他 〕

なし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

長谷川 洋 (HASEGAWA HIROSHI)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号 : 50375656

(2) 研究分担者

高野博之 (TAKANO HIROYUKI)

千葉大学・医学部附属病院循環器内科・講師

研究者番号 : 60334190

(3) 連携研究者

高野博之 (TAKANO HIROYUKI)

千葉大学・医学部附属病院循環器内科・講師

研究者番号 : 60334190