

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09265

研究課題名(和文) クラリスロマイシンとモンテルカストによる大動脈瘤治療と閉塞性肺疾患との逆説解明

研究課題名(英文) Elucidation of the paradox between obstructive pulmonary disease and aortic aneurysms treated with clarithromycin and montelukast

研究代表者

成田 裕司 (NARITA, Yuji)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60378221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：これまでにクラリスロマイシン(CAM)とモンテルカスト(Mont)の抗炎症作用を介した大動脈瘤発症進展抑制効果を報告してきた。CAMとMontは慢性閉塞性肺疾患(COPD)に対し使われる治療薬である。また、COPDは大動脈瘤の罹患率、破裂や死亡のリスクファクターである。本研究では、COPD併発大動脈瘤モデルマウスに対するCAMとMontの両剤投与による大動脈瘤進展への影響を検証した。その結果、COPDは大動脈瘤を進展させること、COPDを罹患していてもCOPD治療薬の投与により大動脈瘤進展を抑制できることが明らかとなった。COPD併発大動脈瘤に対する予後の改善効果が期待できる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

喘息や慢性閉塞性肺疾患(COPD)は大動脈瘤の罹患率、破裂や死亡のリスクファクターだが、クラリスロマイシンとモンテルカストを服用した際の大動脈瘤がどのような挙動を示すかは不明であった。また、大動脈瘤との関係性を検討した報告は皆無であったため、これら治療薬投与の有用性が示唆された場合、大動脈瘤・大動脈解離に対する新たな薬剤介入療法が創出できる可能性がある。本研究では、COPD併発大動脈瘤に対する両剤服用時における大動脈瘤関連リスク(径拡大や瘤破裂など)が低下することを明らかにしたことから、本研究成果は学術的および医学的意義のある研究であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have reported that administration of clarithromycin (CAM) or montelukast (Mont) inhibit aortic aneurysms (AA) development and progression via their properties of anti-inflammatory effects. Both CAM and Mont are widely used for chronic obstructive pulmonary disease (COPD). In addition, COPD is a risk factor for AA rupture and mortality. In this study, we examined the effects of administration of both CAM and Mont on AA progression in COPD-complicated AA model mice. The results showed that COPD enhanced AA progression and CAM and Mont inhibited development and progression of AA with COPD, suggesting those might be expected to improve prognosis for COPD-complicated AA.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：大動脈瘤 クラリスロマイシン モンテルカスト 慢性閉塞性肺疾患 COPD

1. 研究開始当初の背景

小径大動脈瘤や大動脈瘤手術後の残存病変、慢性期 B 型大動脈解離 (B 型解離) などにおいて、再解離や残存病変の瘤径拡大・破裂を予防することが重要である。現在では、血圧コントロールとして降圧薬 (β 遮断薬等) を中心とした保存的治療法が施行されているが、降圧療法のみでの瘤径拡大抑制効果は限定的であり、慢性期の再手術が回避できるとは言い難い。一方、後向き臨床研究では、喘息や慢性閉塞性肺疾患 (COPD) が大動脈瘤の罹患率、破裂や死亡などのリスクファクターになることが分かっている。

大動脈瘤・大動脈解離 (含 B 型解離) の発症機序は、遺伝的な素因のある結合組織疾患を除いて、高血圧を背景に慢性炎症を基盤とした動脈硬化に起因する。病理所見では、血管壁強度を担うエラスチン繊維の構造破壊が顕著に観察される。エラスチン構造破綻には、マクロファージを中心とした炎症性細胞が関与する。集積したマクロファージからは炎症性サイトカイン (IL-1 β , IL-6、腫瘍壊死因子の TNF- α など) やケモカイン (マクロファージ走化因子: MCP-1 など)、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)-2, 9 やエラスターゼ、システイニルロイコトリエン (cys-LT) などを産生し、エラスチン分解や炎症を助長させる。これら病態により血管壁強度を失った大動脈は、血圧に耐えかね瘤状に変性する。

研究代表者らは、先行研究において抗生剤のクラリスロマイシン (CAM) およびロイコトリエン阻害薬のモンテルカスト (Mont) が、それぞれ動物実験において抗炎症作用を介し大動脈瘤発症・瘤径拡大を抑制することを明らかにした^{1,2}。一方、CAM と Mont は COPD 等の肺疾患では治療薬として使用されており、これらを併用することもある。その際の大動脈瘤・B 型解離がどのような挙動を示すかは不明であり、これまでに大動脈瘤との関係性を検討した報告は皆無であることから、両剤服用時における大動脈瘤関連リスク (径拡大や瘤破裂など) を調査することは医学的意義があると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、CAM と Mont に対する大動脈瘤発症予防効果と COPD の大動脈瘤促進効果のパラドックスを解明するため、動物実験で COPD 併発性大動脈瘤に対し CAM と Mont 両剤併用がどのように作用するかを調べた。

3. 研究の方法

(1) CAM, Mont による炎症性マクロファージ遺伝子発現量の検討

細胞レベルにおいて CAM, Mont がどのような作用を及ぼすかを調べるため、in vitro にて LPS 誘発性炎症性マクロファージの培養培地に CAM または Mont の単剤または両剤を添加し遺伝子発現変化を調べた。control 群としてどちらも添加しないマクロファージを用いた。添加して培養 12 時間後に RNA を抽出し定量 RT-PCR を行った。

(2) COPD モデルマウスの確立

COPD モデルマウスとして、エラスターゼ溶液を気管内にスプレーまたは溶液を投与する方法が報告されているが、投与濃度は様々である。エラスターゼ誘発肺気腫モデル確立のために投与濃度を 0.02U, 0.2U, 1.0U に可変して投与し、肺気腫の増悪レベルを検討した。Control には PBS を投与した。4 週間後に肺組織を採取し、組織切片を HE 染色した。

(3) COPD 併発大動脈瘤モデルマウスの作製と CAM, Mont の投与

Apolipoprotein E 遺伝子欠損マウス (28-40 週齢、雄) に、0.2U/50 μ L エラスターゼを気管内投与した。その後、オスミックポンプを用いて、2000 ng/kg/day Angiotensin II を背部皮下から 4 週間持続注入し、COPD 併発大動脈瘤モデルを作製した。CAM, Mont の投与による効果を調べるため、大動脈瘤群 (AA 群)、AA+COPD 群 (AA-C 群)、AA+COPD+治療 (CAM+Mont 投与) 群 (AA-Cm 群) の 3 群を作製し、AA 群と AA-C 群は生理食塩水を、AA-Cm 群は 100mg/kg/day CAM と 10mg/kg/day Mont をそれぞれ毎日経口投与した。投与開始から 0, 1, 2, 3, 4 週間後に大動脈エコーによる観察を行い、4 週後に屠殺し評価した。評価は、大動脈径計測、大動脈イベント回避率 (イベント: 大動脈径拡大が 1.5 倍以上、または、大動脈破裂による死亡) 組織切片によるエラスチン計測、組織中タンパク発現量測定、組織切片蛍光免疫染色によるマクロファージ浸潤を行った。

4. 研究成果

- (1) MCP-1, TNF- α , MMP-9 遺伝子発現では、単剤、両剤で差は見られなかったが、IL-1 β 遺伝子発現量は、control 群 0.82 ± 0.13 、CAM 群 0.76 ± 0.31 、Mont 群 0.65 ± 0.07 、CAM+Mont 群 0.54 ± 0.25 となり、単剤よりも両剤添加で発現量低下傾向がみられた。

(2) HE 染色画像では、PBS 投与に比べ 0.02U/50 μ L エラスターゼ溶液では大きな形態変化は見られなかったが、0.2U/50 μ L および 1.0U/50 μ L エラスターゼ溶液では肺胞が破壊されている所見がみられた (図 1)。したがって、0.2U/50 μ L エラスターゼ溶液を用いて COPD モデルマウスを作製することとした。

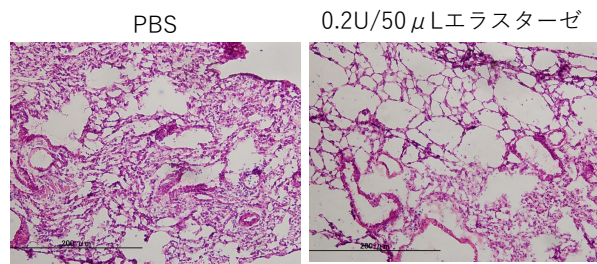


図1 エラスターゼ誘発肺気腫モデル

(3) 大動脈径拡大率は、AA-C 群が最も拡大傾向を示した。このことは、COPD は大動脈径拡大を促進することを示す。さらに、CAM と Mont の投与は大動脈径拡大を抑制できる可能性を示した (図 2)。大動脈イベント回避率は、AA-Cm 群が AA 群および AA-C 群に比べ高く、CAM と Mont 投与は大動脈イベントを低下することがわかった (図 3)。

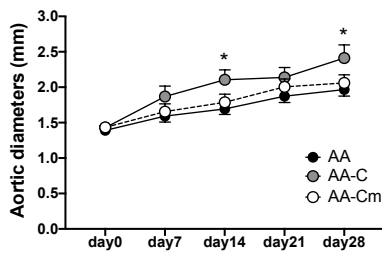


図2 大動脈径計測

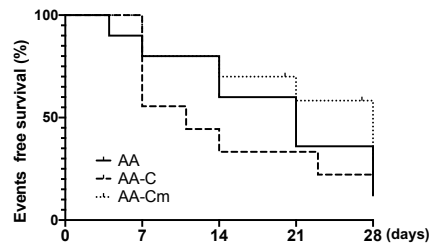


図3 大動脈イベント回避率

エラスチン評価では、AA-Cm 群は AA 群と比較しエラスチン含有率が有意に高かった。組織中タンパク発現量では、AA-Cm 群は他群と比べ TNF- α および active MMP-9 の発現量が有意に低下した。マクロファージ浸潤では、AA 群に比べて AA-C 群では M1 マクロファージの増加が、AA-Cm 群では M2 マクロファージの増加が見られた。また、AA-Cm 群は他群に比べ M1/M2 比が有意に低下した。

以上のことから、①COPD は大動脈瘤を進展させること、②CAM と Mont の併用は抗炎症効果が期待できること、③COPD を罹患していても COPD 治療薬の投与により大動脈瘤進展を抑制できることが明らかとなった。CAM と Mont の投与は、大動脈瘤・解離に関連した予後の改善効果が期待できる可能性が示唆された。

<参考文献>

1. Uchida W, Narita Y, Yamawaki-Ogata A, Tokuda T, Mutsuga M, Fujimoto KL, Abe T, Oshima H, Usui A. J Vasc Surg. 2018;68:82S-92S
2. Kawai Y, Narita Y, Yamawaki-Ogata A, Usui A, Komori K. Bio Med Research International. 2019;2019:9104680

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
研究分担者	碓氷 章彦 (USUI Akihiko) (30283443)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	
研究分担者	緒方 藍歌 (OGATA Aika) (70718311)	名古屋大学・医学系研究科・特任講師 (13901)	
研究分担者	内田 亘 (UCHIDA Wataru) (90770868)	名古屋大学・医学部附属病院・病院講師 (13901)	
研究分担者	六鹿 雅登 (MUTSUGA Masato) (80447820)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関