

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17121

研究課題名（和文）末梢血単球の糖代謝モニタリングを用いた糖尿病性動脈硬化進展予防スキームの構築

研究課題名（英文）The monitoring of monocyte glucose metabolism for the prevention of atherosclerosis progression in diabetes

研究代表者

松浦 祐之介（Matsuura, Yunosuke）

宮崎大学・医学部・准教授

研究者番号：40795853

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,500,000円

研究成果の概要（和文）：糖尿病性動脈硬化症の病態解明を目的として、多層的・多角的に以下の研究を進めた。ヒト大動脈手術サンプルを用いた病理学的解析・メタボローム解析・RNAマイクロアレイ解析及びヒト末梢血単核球由来マクロファージを用いた炎症の制御に関するメカニズム解析、糖尿病マウスマクロファージを用いた代謝解析及びプロテオミクス解析、家兎動脈硬化ステント留置モデルを用いた血管代謝解析と培養細胞を用いた血栓制御に関するメカニズム解析、糖尿病及び非糖尿病心血管疾患合併患者における血中アミノ酸代謝及び脂質代謝の解析を行った。上記解析結果から糖尿病性動脈硬化症進展予防スキーム構築に向けた基盤的知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病は、糖代謝のみならず、脂質代謝やアミノ酸代謝等の異常を伴う複合的な代謝異常である。糖尿病が、動脈硬化性心血管疾患の発症及び進展における強いリスク因子である事は疫学上明らかであるが、リスク因子となる基盤病態に関しては不明な点が多い。従って、糖尿病または非糖尿病性動脈硬化症の病態及びその相違点に関する知見の集積は、治療標的を見据えた糖尿病患者における動脈硬化進展予防スキームの構築において必要不可欠と云える。

研究成果の概要（英文）：Multilayered and multifaceted studies were conducted to elucidate the pathogenesis of diabetic atherosclerosis, including the following.

Pathological, metabolomic, and RNA microarray analyses using human aortic surgery samples and mechanistic analysis of the inflammatory regulation using human peripheral blood mononuclear cell-derived macrophages, Metabolic and proteomic analyses using diabetic mouse macrophages, Vascular metabolism analysis using a rabbit atherosclerotic stent implantation model and mechanistic analysis of thrombus regulation using cultured cells, and Metabolic analysis of amino acids in the blood from diabetic and non-diabetic patients with cardiovascular disease. From the results of the above analyses, we obtained fundamental knowledge for constructing a prevention scheme for the progression of diabetic atherosclerosis.

研究分野：動脈硬化

キーワード：糖尿病性動脈硬化 免疫代謝関連 残余リスク 血栓止血

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦における糖尿病有病者数は1000万人超を記録し(平成28年 国民健康・栄養調査 厚生労働省)、社会問題化している。更に、多くの疫学研究において糖尿病は動脈硬化性心血管疾患の独立した危険因子であることが示されており、糖尿病性動脈硬化症の進展予防につながる病態の解明は喫緊の課題と云える。しかしながら、糖尿病性動脈硬化症の原因の一つとされてきた高血糖に対する介入は、ACCORD試験を含めた複数の大規模臨床試験で、心血管イベント抑制効果を示せなかった。糖尿病は、高血糖のみならず複数の動脈硬化誘起性脂質異常を併せ持つ複合代謝異常 (Matsuura Y et.al, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019 Jan; 39(1):e1-e9)であり、脂質代謝以外にもアミノ酸代謝を含めた広範な代謝変動を伴う。メタボロミクス解析などの網羅的な代謝解析が可能となってきた現在、糖尿病性動脈硬化症に関連する代謝挙動を包括的に捉える事は、糖尿病における動脈硬化進展の原因となる病態を明らかにし、その予防戦略の構築に寄与する基盤的知見を提供すると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、免疫細胞の糖代謝に対する糖尿病の影響についての検討を中心に、糖尿病に関連する代謝変動について多層的な検証を展開し、糖尿病性動脈硬化症の病態解明と病態に基づく動脈硬化進展予防戦略の構築への貢献を目指す。

3. 研究の方法

糖尿病性動脈硬化症の病態解明を目的として、以下の研究を行った。

1. 大動脈瘤手術時に切除されたヒト動脈硬化血管組織において病理解析を行い、早期病変と進行病変に分類した。次に、早期から進行病変間で大きな変動を呈する代謝経路の同定のため、メタボローム解析及びマイクロアレイ解析を行った。加えて、ヒト末梢血単核球由来マクロファージを用いて、上記解析にて同定された代謝経路と炎症との関連性について検証した。更に、末梢血単球における糖代謝モニタリングを行う上でシンプルなワークフローの構築を図った。
2. 糖尿病及び非糖尿病マウスマクロファージの代謝解析、ミトコンドリア解析及びプロテオミクス解析を施行した。一部の解析結果のメカニズムについて、GLUT-1ヘテロ欠損マウスを用いて検証を行った。また、糖尿病マウスにおいて、インスリン投与及びSGLT2阻害薬投与を行い、糖尿病マウスマクロファージの糖代謝に影響を与える因子について検証した。
3. 家兎動脈硬化ステント留置モデルを用いて、ベアメタルステント及びエベロリムス溶出性ステント留置血管組織の病理解析(免疫組織化学解析を含む)及びメタボロミクス解析を施行した。加えて、血管壁の血栓性と血管代謝の関連性を検証すべく、培養冠動脈平滑筋細胞を用いたメカニズム解析を行った。
4. 心血管疾患合併糖尿病及び非糖尿病入院患者において、フレイル合併の検証、残余リスクを考慮した脂質異常症関連パラメータの解析、血中アミノ酸代謝解析を行った。

4. 研究成果

1. 大動脈瘤手術時に採取されたヒト動脈硬化病変において、病理組織解析・メタボローム解析・RNA マイクロアレイ解析による包括的な検証を行い、早期病変から進行病変にかけて強い変動を呈する代謝経路としてキヌレニン代謝を同定した。また、動脈硬化病変の病理組織解析において、マクロファージにおけるキヌレニン代謝関連酵素の発現が確認された。一方、非糖尿病性血管病変との対比検証から、糖尿病性血管病変においてキヌレニン代謝亢進との特異的関連を示唆する所見は見い出せなかった。引き続き施行したヒト末梢血単核球由来マクロファージを用いた siRNA 実験から、炎症制御とキヌレニン関連代謝酵素 (Kynureninase) との関連性を見出した。しかしながら、末梢血単球の糖代謝解析におけるシンプルなワークフローの構築には至らなかった。本研究結果は、J Atheroscler Thromb 誌(J Atheroscler Thromb. 2021 Nov 1;28 (11): 1214-1240)に収載された。
2. ストレプトゾシン誘発糖尿病マウスと非糖尿病マウスから、チオグリコレート腹腔内投与 4 日後に腹腔細胞を回収し、磁気ビーズによる単離/選別マクロファージを用いて解析を行った。結果、非糖尿病マウスと比較して、糖尿病マウスから採取したマクロファージにおいて、GLUT-1 発現の低下に加えて、グルコース取り込み能の減少と解糖機能及びミトコンドリア機能の低下が確認された。続いて施行した GLUT-1 ヘテロ欠損マウスモデルを用いた検証では、マクロファージの代謝への糖尿病の影響は GLUT-1 の低下では説明出来ない事が示唆された。さらに、プロテオミクス解析を行い、糖尿病マウスからのマクロファージにおいて、インスリンシグナリング関連蛋白等の特徴的な発現が明らかになった。最後に、糖尿病マウスマクロファージの代謝特性の規定因子を調べるべく、糖尿病マウスにおいてインスリン投与または SGLT-2 阻害薬投与後にマクロファージの解糖機能を含む代謝解析を施行した。結果、マクロファージの代謝に対する糖尿病の影響は、高血糖によるものではなく、インスリン欠乏による影響である事が示唆された。これらの検証結果は、Circulation Research 誌 (Circ Res. 2022 Mar 4;130(5):779-781)に収載された。
3. インスリンシグナリングと関連する mTOR 経路と血管代謝及び血栓制御との関係について、家兔動脈硬化ステント留置モデル及び培養平滑筋細胞を用いた検証を行った。結果、エベロリムス(mTOR 阻害剤)溶出性ステント留置血管において、ベアメタルステント留置血管と比べ、平滑筋細胞の浸潤抑制、血栓誘起性の低下(組織因子発現の低下)、グルタミンを含むアミノ酸代謝産物の増加を確認した。次に、培養平滑筋細胞を用いたエベロリムス添加実験において、細胞内グルタミンの増加、組織因子発現の抑制、細胞の凝固活性の低下を認めた。上記結果より、血栓性制御における細胞内グルタミン代謝の関与が示唆された。これらの検証結果は、Atherosclerosis 誌(Atherosclerosis 2021 Jul; 328:62-73) に収載された。
4. 動脈硬化性心血管疾患合併フレイルに特徴的な血中アミノ酸代謝産物を同定すると共に、脂質関連の新規治療標的である ANGPTL3 の心血管疾患患者における血中濃度の規定因子を同定した。結果の一部は、第 87 回日本循環器学会学術集会(JCS2023)で発表を行った。現在糖尿病性動脈硬化症進展予防スキームの構築に必要な基盤的知見を集積すべく更なる解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Matsuura Yunosuke, Shimizu-Albergine Masami, Barnhart Shelley, Kramer Farah, Hsu Cheng-Chieh, Kothari Vishal, Tang Jingjing, Gharib Sina A., Kanter Jenny E., Abel E. Dale, Tian Rong, Shao Baohai, Bornfeldt Karin E.	4. 巻 130
2. 論文標題 Diabetes Suppresses Glucose Uptake and Glycolysis in Macrophages	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Circulation Research	6. 最初と最後の頁 779 ~ 781
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCRESAHA.121.320060	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Koyama Shohei, Yamashita Atsushi, Matsuura Yunosuke, Saito Yusuke, Maekawa Kazunari, Gi Toshihiro, Kitamura Kazuo, Asada Yujiro	4. 巻 328
2. 論文標題 Intracellular glutamine level determines vascular smooth muscle cell-derived thrombogenicity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Atherosclerosis	6. 最初と最後の頁 62 ~ 73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.atherosclerosis.2021.05.012	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 Nishimura Masanori, Yamashita Atsushi, Matsuura Yunosuke, Okutsu Junichi, Fukahori Aiko, Hirata Tsuyoshi, Nishizawa Tomohiro, Ishii Hirohito, Maekawa Kazunari, Nakamura Eriko, Kitamura Kazuo, Nakamura Kunihide, Asada Yujiro	4. 巻 28
2. 論文標題 Upregulated Kynurenine Pathway Enzymes in Aortic Atherosclerotic Aneurysm: Macrophage Kynureninase Downregulates Inflammation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 1214 ~ 1240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.58248	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 NAKAMURA KENICHI, KUSUMOTO KAZUNORI, OZONO YOSHINORI, KUROKI KAZUO, MATSUURA YUNOSUKE, MUKUDA TOSHIHIRO, OCHIAI TOSHIMASA, TSUCHIMOCCHI MAI, IWAKIRI HISAYOSHI, HASUIKE SATORU, SHIMODA KAZUYA, NAGATA KENJI	4. 巻 41
2. 論文標題 Frailty Status Predicts New Long-term Care Insurance Certification in Hepatitis C Patients Receiving Antiviral Therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4127 ~ 4131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.15215	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 Takeuchi Takaya, Matsuura Yunosuke, Yamamura Yoshimasa, Ohkusu Momoko, Koyama Shohei, Kawaguchi Takeshi, Akaki Nagayasu Mayumi, Komatsu Hiroyuki, Okayama Akihiko, Ishikawa Tetsunori, Atsumi Tatsuya, Kitamura Kazuo	4. 巻 9
2. 論文標題 A likely unavoidable clinical scenario during treatment for venous thromboembolism complicated with severe immune thrombocytopenia: A case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Case Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ccr3.4805	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 Izumoto Shintaro, Oguri Nobuyuki, Koyama Shohei, Matsuura Yunosuke, Komatsu Hiroyuki, Asada Yujiro, Iwakiri Hironao	4. 巻 3
2. 論文標題 Cardiac Strangulation Due to Partial Pericardial Defect Presenting as Acute Myocardial Infarction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JACC: Case Reports	6. 最初と最後の頁 1635 ~ 1638
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaccas.2021.07.029	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 Komaki Soichi, Ishii Masanobu, Kaichi Ryota, Takae Masafumi, Mori Takayuki, Toida Reiko, Kurogi Kazumasa, Matsuura Yunosuke, Yamamoto Nobuyasu, Tsujita Kenichi, Tsuruda Toshihiro, Kaikita Koichi	4. 巻 38
2. 論文標題 Relationship between coronary artery calcium score and bleeding events after percutaneous coronary intervention in chronic coronary syndrome	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Heart and Vessels	6. 最初と最後の頁 919 ~ 928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00380-023-02248-7	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 Matsuura Yunosuke, Moribayashi Kohei, Kaikita Koichi	4. 巻 29
2. 論文標題 Optimal Antithrombotic Therapy in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention: A Focused Review on High Bleeding Risk	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 1409 ~ 1420
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.RV17066	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 Moribayashi Kohei, Matsuura Yunosuke, Kaikita Koichi	4. 巻 86
2. 論文標題 Stratifying Bleeding Risk and Beyond Predicting Where Bleeding Will Occur	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 784 ~ 786
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-22-0091	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2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Moribayashi K, Matsuura Y, Shimazu H, Suiko Y, Tanaka H, Ishikawa T, Kaikita K
2. 発表標題 Frailty in patients with atherosclerotic cardiovascular disease: frail phenotype, relevant clinical factors, and blood amino acid metabolites
3. 学会等名 第87回日本循環器学会学術集会 (JCS 2023)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中浩喜、水光洋輔、森林耕平、松浦祐之介、石川哲憲、海北幸一
2. 発表標題 Association of serum angiotensin-like protein 3 level with non-lipid clinical factors and lipid parameters in patients with cardiovascular disease.
3. 学会等名 第87回日本循環器学会学術集会 (JCS 2023)
4. 発表年 2023年

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

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			
米国	University of Washington, Seattle, WA			