

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 26 日現在

機関番号: 37104

研究種目: 基盤研究(B)

研究期間: 2009 年度～2011 年度

課題番号: 21390367

研究課題名(和文) マスターサイトカインを標的とした細胞老化制御と  
革新的な大動脈瘤治療法の開発研究課題名(英文) Novel therapeutic strategy for aortic aneurysm targeting master cytokine and  
cellular senescence

研究代表者

青木浩樹(AOKI HIROKI)

久留米大学・循環器病研究所・教授

研究者番号: 60322244

研究成果の概要（和文）：

腹部大動脈瘤は高齢者に多い原因不明の疾患である。治療法は外科的手法に限定され、内科的治療法は存在しない。申請者らは、大動脈瘤の分子病態を制御するマスターサイトカインの候補として IL-6 に着目した。ヒト大動脈瘤組織で網羅的にサイトカイン発現を定量したところ、IL-6 は最も上位の発現量を示しており、VEGF、MCP-3 を含む特定のサイトカイン発現を制御していた。これらのサイトカインは正常大動脈から瘤への移行部に発現が高く、炎症や組織破壊に関わる可能性が示唆された。マウス大動脈瘤モデルでも瘤拡大時期に一致して IL-6 発現が高くなり、瘤形成に対して促進的に作用することが明らかになった。瘤病態に重要な役割を果たすマクロファージにおける IL-6 の機能を検討したところ、予想外にも瘤形成には重要な役割を果たしておらず、むしろ大動脈解離の発症メカニズムに関わる事が明らかになった。今後は、IL-6 の瘤形成促進作用が、いかなる細胞種によって示されるのか、また、これまで全く不明だった大動脈解離の分子病態において、マクロファージの IL-6 シグナルがどのような役割を果たすかを解明する。

研究成果の概要（英文）：

Abdominal aortic aneurysm (AAA) is common to elderly people, of which molecular pathogenesis is largely unknown. We hypothesized that IL-6 may be the master cytokine for regulating the chronic inflammation and tissue destruction in AAA. Indeed, IL-6 was one of the most abundantly expressed cytokines and regulating a subset of proinflammatory cytokines, including VEGF and MCP-3, in human AAA tissue. In mouse model of AAA, IL-6 expression was associated with the expansion of aortic diameter, and was involved in the progression of AAA. Although macrophages are important in pathogenesis of AAA, enhanced IL-6 signaling in macrophages did not affect AAA development. Thus, IL-6-dependent development of AAA appeared to be mediated by cell types other than macrophages. Unexpectedly, we discovered that macrophage IL-6 signaling was critically involved in the development of acute aortic dissection. In the future studies, we will address which cell type is responsible for the IL-6-dependent development of AAA, and how macrophage IL-6 is involved in the pathogenesis of aortic dissection.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2010年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2011年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	13,500,000	4,050,000	17,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：循環器・高血圧、細胞・組織、シグナル伝達、トランスレーショナルリサーチ

1. 研究開始当初の背景

大動脈瘤は、無症状のまま慢性に進行し、破裂による突然死を来す原因不明の疾患である。有効な薬物療法は無く、外科的手法が確立された唯一の治療法である。破裂死の大幅な減少が期待できず、小径大動脈瘤に対する効果的な治療法も無い現状打開のため、病態解明と革新的な治療法開発が急務である。

申請者らの研究から、瘤退縮には炎症シグナルの制御と強靱な組織構築の回復、すなわち組織治癒力の回復が必須であることが明らかとなった。

大動脈瘤組織では多くのサイトカインを介する炎症シグナルが病態進行を起こすが、その中核となるサイトカイン（マスター・サイトカイン）は未解明である。

2. 研究の目的

本研究は、申請者らの予備的検討に基づき、IL-6が大動脈瘤におけるマスター・サイトカインであるとの仮説検証を通じて、慢性炎症制御による理想的な大動脈瘤の退縮・治癒療法の開発を目的とする。

3. 研究の方法

ヒト大動脈瘤組織における IL-6 系の機能解明

患者本人の同意を得て大動脈瘤手術標本で、内因性の IL-6 系と炎症、ECM 代謝、細胞老化等の空間的相関を解析した。

大動脈瘤病態モデルにおける IL-6 系の機能解明

大動脈瘤動物モデルとしてマウス大動脈周囲への CaCl<sub>2</sub> 塗布で惹起される慢性炎症による Ca モデルを用いた。IL-6 機能解明のため、IL-6 受容体阻害抗体を投与した。

4. 研究成果

ヒト大動脈瘤組織における IL-6 系の機能解明

ヒト大動脈瘤培養組織に IL-6 および JAK 阻害薬を添加し、JAK 依存性に分泌される炎症性サイトカイン群を同定した。さらに、同サイトカイン群の発現と大動脈瘤の病理組織型との相関を検討し、JAK 依存性サイトカインが正常径から瘤径拡大部への移行部で高発現することを見いだした。

大動脈瘤病態モデルにおける IL-6 系の機能解明

マウス大動脈周囲に CaCl<sub>2</sub> を塗布することで慢性炎症を惹起し、大動脈瘤を形成する動物モデル系を確立した。このモデルを用いて、IL-6 系の活性と老化、炎症、ECM 代謝関連分子の時間・空間的相関を検討した。炎症刺激が加えられた後、IL-6 系シグナル (STAT3 リン酸化) は急性期と慢性期に 2 峰性の活性化を示し、マクロファージの浸潤時期と一致していた。

大動脈瘤形成における IL-6 の意義を明らかにするために、マウス大動脈瘤モデルにおいて IL-6 受容体阻害抗体を投与した。IL-6 受容体阻害抗体は大動脈瘤形成を抑制することから、病態全般に対する IL-6 の機能としては、病態促進的に作用すると考えられた。

マクロファージにおける IL-6 の機能を明らかにするために、SOCS3 遺伝子座に loxP を組み込んだマウスと、組織特異的 Cre リコンビナーゼ発現マウスとの交配による、マクロファージ特異的 SOCS3 ノックアウトを用いて IL-6 系シグナルを増強した際の瘤形成を検討した。IL-6 はマクロファージを活性化することが知られているが、予想外なことにマクロファージ特異的 SOCS3 ノックアウトでは野生型と比較して瘤形成に顕著な差を認めなかった。

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 11 件)

- 1 Yokoyama, U., Aoki, H. et al. Inhibition of EP4 Signaling Attenuates Aortic Aneurysm Formation. PLoS ONE, (2012). 査読有
- 2 Tazume, H., Aoki, H. et al. Macrophage-derived Angiopoietin-like Protein 2 Accelerates Development of Abdominal Aortic Aneurysm Arterioscler Thromb Vasc Biol in press, (2012). 査読有
- 3 Ohmura, H., Aoki, H. et al. Cardiomyocyte-specific transgenic expression of lysyl oxidase-like protein-1 induces cardiac hypertrophy in mice. Hypertens Res in press, (2012). 査読有
- 4 Kajimoto, H., Yasukawa, H., Aoki, H. et al. Inhibition of eNOS phosphorylation mediates endothelial dysfunction in renal failure: new effect of asymmetric dimethylarginine. Kidney Int 81, 762-768, (2012). 査読有
- 5 Yoshimura, K., Ikeda, Y. & Aoki, H. Innocent bystander? Intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm. Atherosclerosis 218, 285-286, (2011). 査読有
- 6 Tang, E. H., Aoki, H. et al. Deletion of EP4 on bone marrow-derived cells enhances inflammation and angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm formation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 31, 261-269, (2011). 査読有
- 7 Shintani, Y., Aoki, H. et al. Hepatocyte growth factor promotes an anti-inflammatory cytokine profile in human abdominal aortic aneurysm tissue. Atherosclerosis 216, 307-312, (2011). 査読有
- 8 Kimura, T., Aoki, H., Yoshimura, K. et al. Tenascin-C is expressed in abdominal aortic aneurysm tissue with an active degradation process. Pathol Int 61, 559-564, (2011). 査読有
- 9 Kaneko, H., Aoki, H., Yoshimura, K. et al. Role of vascular endothelial growth factor-A in development of abdominal aortic aneurysm. Cardiovasc Res 91, 358-367, (2011). 査読有
- 10 Kaneko, H., Aoki, H., Yoshimura, K. et al. Resveratrol prevents the development of abdominal aortic

aneurysm through attenuation of inflammation, oxidative stress, and neovascularization. Atherosclerosis 217, 350-357, (2011). 査読有

- 11 Aoyama, H., Aoki, H., Yoshimura, K. et al. Isoform-Specific Roles of Protein Phosphatase 1 Catalytic Subunits in Sarcoplasmic Reticulum-Mediated Ca<sup>2+</sup> Cycling. Cardiovasc Res 89, 79-88, (2010). 査読有

[学会発表] (計 19 件)

1. Ohno S, Aoki H et al., JAK/STAT pathway is highly active and regulates a subset of chemokines in human abdominal aortic aneurysm, 第75回 日本循環器学会総会・学術集会, 2011年8月3日 - 4日, 横浜
2. Oba T, Yasukawa H, Aoki H et al., Activation of hypoxia inducible factor-erythropoietin pathway may prevent acute myocardial injury during remote ischemic preconditioning, American Heart Association Scientific Sessions 2011, Nov 12 - 16, 2011, Orlando, FL, USA
3. Kajimoto H, Aoki H et al., Inhibition of camkii- and erk-mediated enos phosphorylation impairs endothelial function in renal failure mice: New effect of asymmetric dimethylarginine, American Heart Association Scientific Sessions 2011, Nov 12 - 16, 2011, Orlando, FL, USA
4. Yoshimura K, Aoki H et al., Development of a Novel Hybrid Device with Rechargeable Drug-Eluting Capability for Minimally Invasive Treatment of Aortic Aneurysms, American Heart

- Association Scientific Sessions  
2011, Nov 12 - 16, 2011, Orlando,  
FL, USA
5. Hiroki Aoki, Taizo Kimura, Koichi Yoshimura, Kyoko Imanaka-Yoshida, Toshimichi Yoshida, Kazutaka Aonuma, Michiaki Hiroe, Tsutomu Imaizumi, Masunori Matsuzaki, Molecular network for the homeostasis of aortic tissue, 第18回日本血管生物医学学会, 2010年12月3日, 大阪
  6. 大野聡子、青木浩樹、西原通秀、今泉勉, JAK/STAT系による大動脈瘤のサイトカインネットワーク制御, 第33回日本高血圧学会, 2010年10月15日-17日, 福岡
  7. 西原通秀、青木浩樹、大野聡子、今泉勉, ヒト大動脈瘤組織におけるマトリクス・メタロプロテアーゼ系の発現パターン解析, 第33回日本高血圧学会, 2010年10月15日-17日, 福岡
  8. H. Aoki, T. Kimura, K. Yoshimura, K. Imanaka-Yoshida, T. Yoshida, K. Aonuma, M. Hiroe, T. Imaizumi, M. Matsuzaki, Tenascin-C Is a Molecular Shock-Absorber That Protects Aorta from Dissection, American Society for Cell Biology Annual Meeting 2010, December 11-15, 2010, Philadelphia, PA, USA
  9. Utako Yokoyama, Aki Shioda, Yuko Kato, Toshihide Asou, Hiroki Aoki, Tomoyuki Nakamura, Susumu Minamisawa, and Yoshihiro Ishikawa, Prostaglandin EP4 Signaling Negatively Regulates Vascular Elastic Fiber Assembly in the Ductus Arteriosus, American Heart Association Scientific Sessions 2010, Nov. 13-17, 2010, Chicago, IL, USA
  10. Taizo Kimura, Koichi Yoshimura, Hiroki Aoki, Kyoko Imanaka-Yoshida, Toshimichi Yoshida, Kazutaka Aonuma Michiaki Hiroe, Tsutomu Imaizumi, Masunori Matsuzaki, Tenascin-C Protects Aortic Tissue from The Development of Aortic Dissection, Cell Symposia: Cell Inflammation and Disease Symposium, Sept 26 - 28, 2010, Lisbon, Portugal
  11. Koichi Yoshimura and Hiroki Aoki, Pinpoint Drug Delivery to Any Lesion in the Body: A Novel Hybrid Device with Rechargeable Drug-Eluting Capability for Personalized and Minimally Invasive Treatment of Aortic Aneurysms, Technology Showcase of Hiroshima University and Western Japan's Innovative Academia, JETRO East, 6. Jun. 10, New York City, NY, USA
  12. 青木浩樹, 吉村耕一, 木村泰三, 宮本貴宣, 今中-吉田恭子, 吉田利通, 浜本義彦, 青沼和隆, 廣江道昭, 重松宏, 松崎益徳, 今泉勉, ワークショップ「慢性炎症：生活習慣病・癌に共通する基盤病態」炎症のタイムカプセル：大動脈瘤をモデル疾患とした慢性炎症の病態解明, 第32回日本分子生物学会, 2009年12月9日 - 12日, 横浜
  13. Kimura T, Yoshimura K, Aoki H,

- Ikeda Y, Imanaka-Yoshida K, Hiroe M, Imaizumi T, Aonuma K and Matsuzaki M, Tenascin-C Protects Aortic Tissue From Multiple Insults Against The Development of Aortic Aneurysm, 第74回日本循環器学会, 2010年3月5～7日, 京都
14. Yoshimura K, Aoki H, Ikeda Y, , Matsuzaki M, Hamano K, A Novel Hybrid Device for Personalized and Minimally Invasive Treatment of Aortic Aneurysms, 第74回日本循環器学会, 2010年3月5～7日, 京都
15. Aoki H, Yoshimura K, Kimura T, Imanaka-Yoshida K, Aonuma K, Hiroe M, Shigematsu H, Matsuzaki M and Imaizumi T, シンポジウム「大動脈疾患治療 UP to DATE」Molecular Network of Abdominal Aortic Aneurysm, 第74回日本循環器学会, 2010年3月5～7日, 京都
16. H. Aoki, K. Yoshimura, H. Shigematsu, T. Imaizumi, M. Matsuzaki, Symposium "Recent advances in pathobiology and treatment of aortic aneurysms" Molecular Pathogenesis of Abdominal Aortic Aneurysm., 第41回日本動脈硬化学会, 2009年7月17 - 18日, 下関
17. Koichi Yoshimura, Hiroki Aoki, Akira Furutani, Masunori Matsuzaki and Kimikazu Hamano, Critical role of JNK2 for development of abdominal aortic aneurysm in a murine model, Asian Society for Vascular Surgery Annual Congress 2009, October 14 - 17, 2009. ,

Busan, Korea

18. Kimura T, Yoshimura K, Aoki H, Ikeda Y, Hamano K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Hiroe M, Aonuma K and Matsuzaki M, Tenascin-C Has A Protective Role during The Development of Aortic Aneurysm, American Heart Association Scientific Sessions 2009, November 14 - 18, 2009., Orlando, FL, USA.
19. Kimura T, Yoshimura K, Aoki H, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Aonuma K, Hiroe M, Imaizumi T and Matsuzaki M, Tenascin C Protects Aortic Tissue From Multiple Insults Against The Development of Aortic Aneurysm, American Society for Cell Biology Annual Meeting 2009, December 5 - 9, 2009., San Diego, CA, USA.

〔図書〕（計1件）

- 1 吉村耕一, 青木浩樹. モデル動物利用マニュアル「循環器疾患」 (編 北徹 et al.) 149 - 160 (エル・アイ・シー, 2010).

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計1件）

名称：動脈瘤予防および／または治療剤  
発明者：吉村耕一、青木浩樹、松崎益徳  
権利者：山口大学  
種類：特許  
番号：特許第4686704号  
取得年月日：2011/2/25  
国内外の別：国内

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

青木 浩樹 (AOKI HIROKI)  
久留米大学・循環器病研究所・教授  
研究者番号：60322244

### (2) 研究分担者

吉村 耕一 (YOSHIMURA KOICHI)  
山口大学・大学院医学系研究科・准教授  
研究者番号：00322248  
安川 秀雄 (YASUKAWA HIDEO)  
久留米大学・医学部・准教授  
研究者番号：60289361

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：