

## 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6月4日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590374

研究課題名（和文）アテローム血栓症の発症におけるアネキシンA5の関与

研究課題名（英文）Significance of Annexin A5 in atherothrombosis

研究代表者

佐藤 勇一郎 (SATO YUICHIRO)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：90347055

研究成果の概要（和文）：動脈硬化を基盤とする血栓形成は心筋梗塞などの虚血性疾患の成因に関して重要である。今回我々は血栓形成とアネキシンA5との関連について検討した。

ヒト病変部位での検討。心筋梗塞または狭心症をきたした患者さんから得られた血栓、または病理解剖例の冠動脈組織で血栓を組織学的に検討した。アネキシンA5は免疫染色で陰性であった。またPCRを用いてmRNAについて検討したが、mRNAでの発現は認められなかった。臨床的な血栓の危険因子とアネキシンA5との関連はなかった。ウサギ大腿動脈バルーン再障害モデルを作製しました。In vitro血栓イメージングモデルを作製した。これらの血栓においてもアネキシンA5の蛋白、mRNAの発現は認められなかった。

以上の結果より血栓形成に関してアネキシンA5の発現は認められず、血栓形成には関与しないことが推測された。

研究成果の概要（英文）：We studied the immunohistochemical study or PCR study of annexin A5 in thrombosis. No apparent annexin A5 was detected in thrombi by immunohistochemical study or PCR study. Next, we examined the annexin A5 by flow chamber study and rabbit thrombosis model. No annexin A5 was detected in these models. Annexin A5 was not associated with thrombosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：人体病理

科研費の分科・細目：血栓症

キーワード：人体病理、血栓、動脈硬化、Annexin A5

## 1. 研究開始当初の背景

日本人の死因として、心筋梗塞や脳梗塞などの血管の病気は、癌と並んで重要である。動脈硬化を基盤とする血栓形成は心筋梗塞、脳梗塞などの虚血性疾患の成因に関与してい

る。今回我々は血栓形成とアネキシンA5との関連について検討した。

## 2. 研究の目的

心筋梗塞や脳梗塞などのアテローム血栓症は、粥状動脈硬化巣（プラーク）の破綻に伴う血栓形成により発症する。本研究では、アテローム血栓症の発症におけるアネキシンA5の関与について、剖検例の冠動脈と狭心症・心筋梗塞患者のアテレクトミー標本および吸引血栓を用いて臨床病理学的検討を行う。さらに培養細胞、血栓イメージング法、動物実験により、アネキシンA5発現調節機序の解明とアネキシンA5の血栓抑制作用の検討を行い、アテローム血栓症の新規治療薬としての可能性を探る

## 3. 研究の方法

宮崎大学医学部附属病院および教育関連病院で施行されるDCA標本200例、心筋梗塞患者の冠動脈から採取される吸引血栓・血液サンプル60例およびヒト剖検症例冠動脈標本50例を用いて、冠動脈プラークと非プラークにおけるアネキシンA5蛋白発現の局在を免疫組織化学的に検討し、同時に細胞レベルにおけるmRNA発現量および発現様式をリアルタイムPCR法、マイクロダイセクション法およびIn situ hybridization法により検討し、動脈硬化巣の組織所見との関連を明らかにする。動脈硬化巣における組織因子活性を測定し、組織因子活性を抑制するかどうかを検討する。DCA標本、吸引血栓・血液およびヒト剖検症例冠動脈標本でのアネキシンA5蛋白・mRNA発現とその局在および蛋白量の結果と臨床所見（安定狭心症 vs. 不安定狭心症、再狭窄の有無・程度との関連）を比較検討し、アテローム血栓症発症におけるアネキシンA5の関与について検討する。また、糖尿病、高脂血症、高血圧、喫煙などの危険因子との関連性についても検討する。またウサギ大腿動脈バルーン再障害モデルを作製したIn vitro血栓イメージングモデルを作製し実験モデルにおいても検討する。

## 4. 研究成果

動脈硬化を基盤とする血栓形成は心筋梗塞などの虚血性疾患の成因に関して重要である。今回我々は血栓形成とアネキシンA5との関連について検討した。

### 【平成21年度】

ヒト病変部位での検討。心筋梗塞または狭心症をきたした患者さんから、冠状動脈の狭窄部位切除術（DCA）標本、吸引してえられた血栓、または病理解剖例の冠動脈組織で血栓を組織学的に検討した。これらの血栓は、フィブリン、血小板、赤血球で構成される混合

血栓であった。これらの血栓は、免疫染色で、抗フィブリン抗体、抗血小板抗体、抗赤血球抗体陽性であった。アネキシンA5は免疫染色で陰性であった。またPCRを用いてmRNAについて検討したが、mRNAでの発現は認められなかった。

また臨床的な血栓の危険因子（年齢、性別、肥満度、喫煙の有無、高血圧の有無、脂質代謝異常症の有無、糖尿病の有無、痛風の有無）との関連について検討した。これらの危険因子とアネキシンA5との関連はなかった。

### 【平成22年度】

ひきつづき心筋梗塞または狭心症をきたした患者さんから、DCA標本、吸引血栓、または病理解剖例の冠動脈組織で血栓を組織学的に検討した。これらの血栓は、フィブリン、血小板、赤血球で構成される混合血栓であった。アネキシンA5は免疫染色で陰性であった。またPCRを用いてmRNAについて検討したが、mRNAでの発現は認められなかった。

また臨床的な血栓の危険因子とアネキシンA5との関連はなかった。

### 【平成23年度】

ウサギ大腿動脈バルーン再障害モデルを作製したIn vitro血栓イメージングモデルを作製した。

これらの血栓においてもアネキシンA5の蛋白、mRNAの発現は認められなかった。

以上の結果より血栓形成に関してアネキシンA5の発現は認められず、血栓形成には関与しないことが推測された。

## 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6件）

1. Takahashi M, Yamashita A, Moriguchi-Goto S, Sugita C, Matsumoto T, Matsuda S, Sato Y, Kitazawa T, Hattori K, Shima M, Asada Y.

Inhibition of factor XI reduces thrombus formation in rabbit jugular vein under endothelial denudation and/or blood stasis. *Thromb Res.* 査読有、2010;125:464-70.

2. Sato S, Sato Y, Marutsuka K, Takeshima K,

Asada Y. *Cytopathology* 査読有  
Characteristics of tumor vessels in squash smears of astrocytic tumors. 2011, 30:16-21.

3. Sato S, Sato Y, Hatakeyama K, Marutsuka K, Yamashita A, Takeshima H, Asada Y. Quantitative analysis of vessels with smooth muscle layer in astrocytic tumors: correlation with histological grade and prognostic significance. *Histopathol* 査読有 2011 26:497-504

4. Matsuda S, Yamashita A, Sato Y, Kitajima S, Koike T, Sugita C, Moriguchi-Goto S, Hatakeyama K, Takahashi M, Koshimoto C, Matsuura Y, Iwakiri T, Chen YE, Fan J, Asada Y. Human C-reactive protein enhances thrombus formation after neointimal balloon injury in transgenic rabbits. *J Thromb Haemost.* 査読有 9: 201-208, 2011

5. Yano Y, Matsuda S, Hatakeyama K, Sato Y, Imamura T, Shimada K, Kodama T, Kario K, Asada Y. Plasma Pentraxin 3, but not high-sensitivity C-reactive protein, is a useful inflammatory biomarker for predicting cognitive impairment in elderly hypertensive patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 査読有 2010;65(5):547-52.

6. Konishi M, Sugiyama S, Sato Y, Oshima S, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Matsubara J, Sumida H, Nagayoshi Y, Sakamoto K, Utsunomiya D, Awai K, Jinnouchi H, Matsuzawa Y, Yamashita Y, Asada Y, Kimura K, Umemura S, Ogawa H. Pericardial fat inflammation correlates with coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 査読有 2010;213(2):649-55.

[学会発表] (計 7 件)

1. Sato Y, Moriguchi-Goto S, Hatakeyama K, Marutsuka K, Asada Y: Decreased expression of CD39 in symptomatic carotid artery plaques. The 6th congress of Asia Pacific Society on Thrombosis and Haemostasis (2010.10.13-16, Bali, Indonesia)

2. Sato Y, Ueda H, Hatakeyama K, Yamashita A, Asada Y. Proportion of platelets, fibrin, and red

blood cells differs in cardioembolic and atherothrombotic thrombi. (XXIII Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis (2011.7.23-28, Kyoto).

3. 佐藤勇一郎、畠山金太、丸塚浩介、浅田祐士郎：右心室血栓症、冠動脈血栓症を伴った特発性好酸球増多症候群の 1 剖検例。第 31 回心筋生検研究会 (2009/11/27-28)、大阪吹田市

4. 佐藤信也、佐藤勇一郎、丸塚浩助、浅田祐士郎：圧挫標本による脳腫瘍血管の形態学的検討。第 99 回日本病理学会総会 (2010/4/27-29, 東京)

5. 佐藤勇一郎、山田直志、木許恭宏、中原彰彦 臍帯動脈血栓症の一例 第 30 回日本小児病理研究会 (2010/9/4) 大阪市

6. 佐藤信也、徳満貴子、佐藤勇一郎、神田修司、大野昭信、丸塚浩助 乏突起膠細胞系腫瘍診断における術中細胞診の有用性 第 49 回日本臨床細胞学会秋期大会 (2010 年 11 月 21 日、22 日、神戸)

7. 佐藤 勇一郎、浅田祐士郎、丸塚 浩助、山田 直史、鮫島 浩、池ノ上 克 新しい診断基準を用いた絨毛膜羊膜炎の組織学的検討。第 19 回日本胎盤学会 (2011 年 9 月 30 日、10 月 1 日) 東京都千代田区

[図書] (計 3 件)

1. 佐藤勇一郎、浅田祐士郎：病理学的見地からみた石灰化。

心臓血管画像 M00K2: 62-64 (2009) 産業開発機構

2. 佐藤勇一郎、浅田祐士郎：冠動脈プラークの病理。虚血性心疾患の基礎知識 *medicina*: 1535-1537 (2010) 医学書院

3. 佐藤勇一郎：臍帯異常。胎児死亡と胎盤病理 *産科と婦人科*: 95 (6) :727-732 (2011)

[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 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

<http://www.miyazaki-med.ac.jp/pathol/index.htm>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐藤 勇一郎 (SATO YUICHIRO)  
宮崎大学・医学部・助教  
研究者番号：90347055

### (2) 研究分担者

丸塚 浩助 (MARUTSUKA KOSUKE)  
宮崎大学・医学部・准教授  
研究者番号：00239154

畠山 金太 (HATAKEYAMA KINTA)  
宮崎大学・医学部・講師  
研究者番号：60325735

山下 篤 (YAMASHITA ATSUSHI)  
宮崎大学・医学部・助教  
研究者番号：90372797

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：