

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 14 日現在

機関番号：84305
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21590918
 研究課題名（和文） メタボリックシンドロームと喫煙の心血管リスクにおける可溶性 VEGF 受容体の役割
 研究課題名（英文） The role of soluble VEGF receptor in cardiovascular risk of metabolic syndrome and smoking
 研究代表者 和田 啓道（Hiromichi Wada）
 独立行政法人国立病院機構（京都医療センター臨床研究センター）・
 展開医療研究部・研究室長（先端医療技術開発）
 研究者番号：20416209

研究成果の概要（和文）：肥満から動脈硬化が発症する機序は、不明である。我々は、血管内皮増殖因子 A (VEGF-A) の内因性阻害因子である可溶性 VEGF 受容体 2 (sVEGFR-2) がインスリン抵抗性に比例してメタボリックシンドローム患者血清で有意に上昇していることを見出した。また禁煙後の体重増加に伴って sVEGFR-2 レベルが上昇することも見出した。sVEGFR-2 はリンパ管新生因子 VEGF-C の内因性拮抗因子でもある。我々は VEGF-A よりも VEGF-C の方が脂質異常と動脈硬化により深く関連していることを見出した。

研究成果の概要（英文）：The mechanisms that lead from obesity to atherosclerotic disease are not fully understood. Obesity involves angiogenesis in which vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) plays a key role. Soluble VEGF receptor-2 (sVEGFR-2) acts as an endogenous inhibitor of VEGF-A. We demonstrated that serum levels of sVEGFR-2 are increased in sera from subjects with metabolic syndrome in association with insulin resistance. We also showed that the sVEGFR-2 level, as well as the body mass index, significantly increases after successful smoking cessation. A recent study reported that sVEGFR-2 also acts as an endogenous inhibitor of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C). We found that VEGF-C, rather than VEGF-A, is closely related to dyslipidemia and atherosclerosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：メタボリックシンドローム、喫煙

1. 研究開始当初の背景

(1) 肥満・メタボリックシンドローム (MetS) は、その罹患者数の多さと、生活習慣改善により確実に効果を期待出来ることから、重点的に克服すべき心血管リスクである。

(2) 喫煙もまた心血管リスクであるが、禁煙に伴う体重増加は、糖尿病の発症率を上昇させる。

(3) しかしながら、肥満・MetS および禁煙後の体重増加に伴う動脈硬化性疾患のリスクや発症機序については、十分には解明されていない。

(4) 我々は最近、MetS 患者の血清において、可溶性血管内皮増殖因子受容体 2 (sVEGFR-2) が有意に上昇していることを見出した。血管内皮増殖因子(VEGF-A)は哺乳類の発生のみならず、成体における内皮機能維持にも不可欠な因子である。sVEGFR-2 はその VEGF-A の内因性阻害因子である。

2. 研究の目的

(1) そこで、本研究ではまず、肥満・MetS と血清 sVEGFR-2 レベルの関連について、いかなる内服治療も受けていない健診受診者において、詳細に検討した。

(2) 次に、禁煙外来における禁煙成功が体重および血清 sVEGFR-2 レベルに及ぼす影響を検討した。

(3) さらに、研究の途中で、sVEGFR-2 がリンパ管新生因子 VEGF-C の内因性阻害因子として、リンパ管新生に関与するという報告があった。そのため、肥満から動脈硬化を発症する機序における VEGF-C の役割についても検討した。

3. 研究の方法

(1) 健診センター受診者の内、いかなる内服治療も受けておらず、同意した連続 272 名から空腹時血清を採取し、 -80°C で凍結保存した。sVEGFR-2、VEGF-A、adiponectin、高感度 CRP (hsCRP) レベルを市販の ELISA kit を用いて測定した。sVEGFR-2 と他のパラメーターとの関連を検討した。

(2) 禁煙外来受診者から同意を得て、血清を採取し、 -80°C で凍結保存した。その内、3 か月の標準的禁煙治療により、禁煙に成功した 67 名については禁煙成功後も血清を採取し、 -80°C で凍結保存した。禁煙成功した 67 名の禁煙前後の血清 sVEGFR-2、VEGF-A、adiponectin、hsCRP レベルを市販の ELISA kit を用いて測定した。

(3)

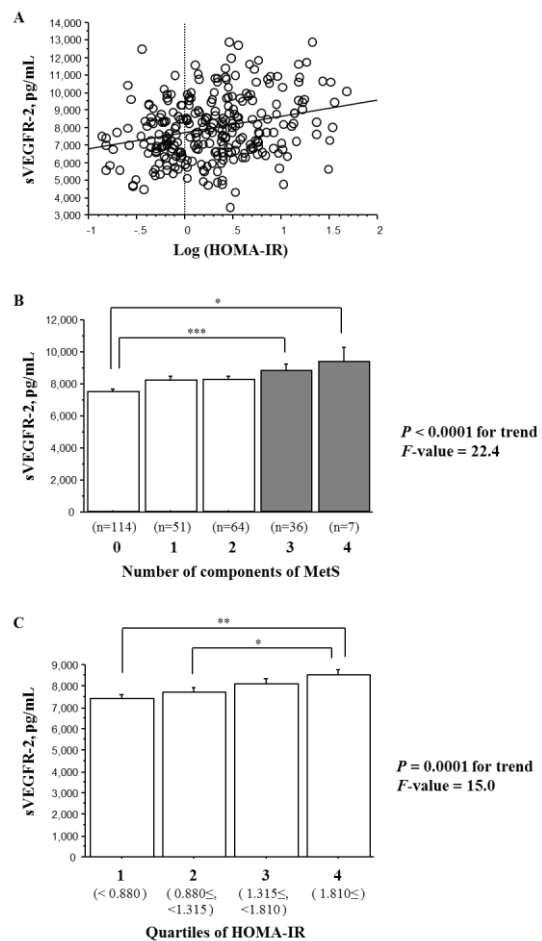
① 健診センター受診者の内、いかなる内服治療も受けておらず、同意した連続 423 名から空腹時血清を採取し、 -80°C で凍結保存した。VEGF-A、VEGF-C、adiponectin、hsCRP レベルを市販の ELISA kit を用いて測定した。VEGF-A、VEGF-C と他のパラメーターとの関連を検討した。

② 6 週齢の雄 ApoE 欠損マウスに高脂肪食または通常食を投与して、16 週後に、血清を採取し凍結保存した。VEGF-A、VEGF-C レベルを市販の ELISA kit を用いて測定した。また大動脈起始部の凍結切片を作成し、Oil Red O 染色、抗 VEGF-A 抗体、抗 VEGF-C 抗体を用いた免疫染色を施行した。

4. 研究成果

(1) 血清 sVEGFR-2 レベルは非 MetS 群と比較して、MetS 群において有意に高値であった ($P = 0.006$)。また、sVEGFR-2 の最強の独立した規定因子はインスリン抵抗性の指標である homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) であった (図 1A)。また、sVEGFR-2 は MetS の構成因子集積数 (図 1B)、および HOMA-IR (図 1C) の四分位の増加に従って上昇していた。さらに多変量解析の結果、VEGF-A の独立した規定因子が body mass index (BMI) と拡張期血圧であったのに対し、sVEGFR-2 の独立した規定因子は HOMA-IR と炎症マーカーである hsCRP であった。

図 1



(2) 3 か月間の禁煙成功により、BMI は有意に上昇した。しかしながら、hsCRP、adiponectin は有意差がなかった。これに対して、sVEGFR-2 は禁煙成功後に有意に上昇した (図 2)。

図 2

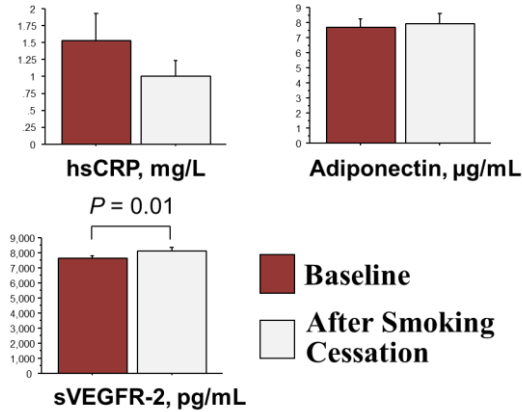
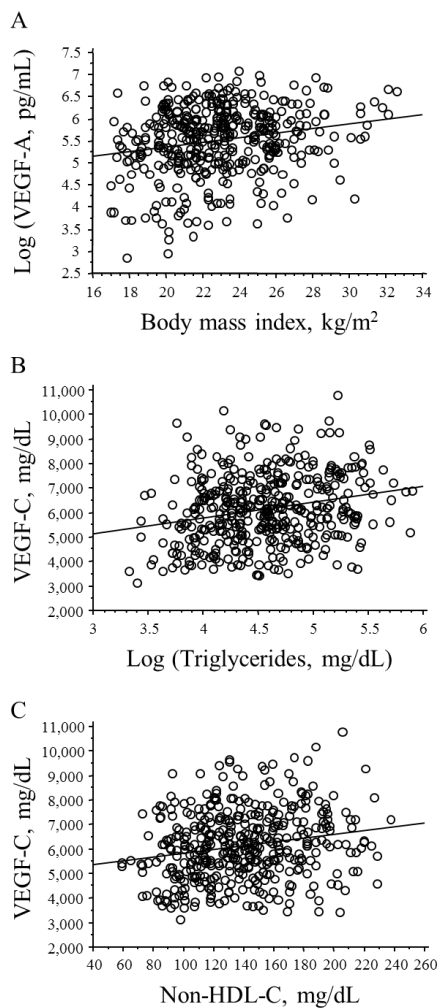


図 3



(PLoS ONE. 2011; 6(12): e29351)

(3)

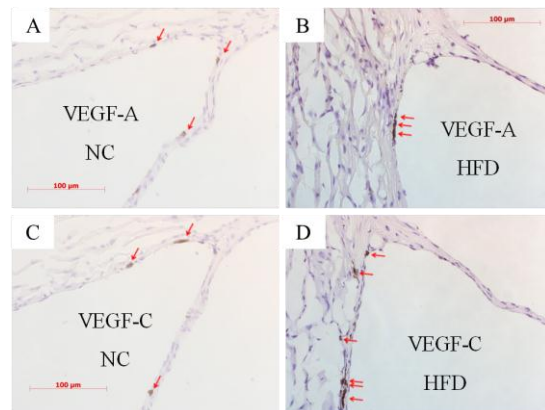
① VEGF-A が肥満そのものの指標である BMI や腹囲と強い相関を認めるのに対して、VEGF-C は VEGF-A よりも脂質・代謝異常とより密接に相関していることが明らかとなった。

ステップワイズ回帰分析の結果、VEGF-A の最強の独立した規定因子は BMI であった (図 3 A)。これに対して、VEGF-C の強い規定因子は、年齢、中性脂肪 (triglycerides)、non-HDL コレステロール (non-HDL-C) であった (図 3 B, C)。

② 通常食 (NC) 群と高脂肪食 (HFD) 群を比較すると、体重、総コレステロール、LDL コレステロールは高脂肪食群の方が有意に高値であった。しかしながら、HDL コレステロール、triglycerides は両群間で有意差がなかった。Oil red O 染色で定量化された動脈硬化プラーク面積は、HFD 群の方が NC 群と比較して有意に大きかった。

免疫染色の結果、プラークにおける VEGF-A の発現は、NC 群と比較して HFD 群において有意な増加は認められなかったが、VEGF-C の発現は NC 群と比較して HFD 群で有意に増加していた (図 4)。

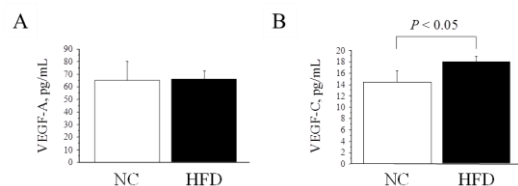
図 4



(PLoS ONE. 2011; 6(12): e29351)

血清 VEGF-A レベルは両群間で有意差がなかった。しかしながら、VEGF-C レベルは HFD 群の方が NC 群と比較して、有意に高値であった (図 5)。

図 5



以上から、sVEGFR-2 および VEGF-C が肥満から動脈硬化を発症するメカニズムに関与している可能性が示唆された。

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 3 件)

1. Wada H, Ura S, Kitaoka S, Satoh-Asahara N, Horie T, Ono K, Takaya T, Takanabe-Mori R, Akao M, Abe M, Morimoto T, Murayama T, Yokode M, Fujita M, Shimatsu A, Takahashi Y, Hasegawa K. Distinct Characteristics of Circulating Vascular Endothelial Growth Factor-A and C Levels in Human Subjects. PLoS ONE. 2011; 6(12): e29351. Epub 2011 Dec 20.
査読あり
2. Wada H, Ura S, Satoh-Asahara N, Kitaoka S, Mashiba S, Akao M, Abe M, Ono K, Morimoto T, Fujita M, Shimatsu A, Takahashi Y, Hasegawa K. α 1-Antitrypsin-low-density-lipoprotein serves as a marker of smoking-specific oxidative stress. J Atheroscler Thromb. 2012 Jan 28; 19(1): 47-58.
査読あり
3. Wada H, Satoh N, Kitaoka S, Ono K, Morimoto T, Kawamura T, Nakano T, Fujita M, Kita T, Shimatsu A, Hasegawa K. Soluble VEGF receptor-2 is increased in sera of subjects with metabolic syndrome in association with insulin resistance. Atherosclerosis. 2010 Feb; 208(2): 512-7.
査読あり

[学会発表] (計 25 件)

1. Shuichi Ura, Hiromichi Wada, Shuji Kitaoka, Noriko Satoh-Asahara, Takahiro Horie, Koh Ono, Tomohide Takaya, Rieko Takanabe-Mori, Masaharu Akao, Mitsuru Abe, Tatsuya Morimoto, Masatoshi Fujita, Akira Shimatsu, Koji Hasegawa. Serum Levels of Vascular Endothelial Growth Factor-C are Associated with Dyslipidemia and Atherosclerosis. 第 76 回日本循環器学会年次集会 2012 年 3 月 17 日 福岡
2. Hiromichi Wada, Noriko Satoh-Asahara, Shuichi Ura; Akira Yamada; Shuji Kitaoka, Masaharu Akao, Mitsuru Abe, Koh Ono, Tatsuya Morimoto, Masatoshi Fujita, Akira Shimatsu, Yuko Takahashi, Koji Hasegawa. α 1-Antitrypsin-low-density-lipoprotein

Serves as a Marker of Smoking-specific Oxidative Stress. 第 75 回日本循環器学会年次集会 2011 年 8 月 4 日 横浜

3. Hiromichi Wada, Noriko Satoh, Shuji Kitaoka, Koh Ono, Tatsuya Morimoto, Teruhisa Kawamura, Tameo Nakano, Masatoshi Fujita, Toru Kita, Akira Shimatsu, Koji Hasegawa. Soluble VEGF Receptor-2 is a Possible Novel Indicator of Impaired Angiogenesis in Metabolic Syndrom. 第 74 回日本循環器学会年次集会 2010 年 3 月 7 日 京都

[その他]

ホームページ等

<http://www.hosp.go.jp/~kyotolan/html/guide/medicalinfo/clinicalresearch/expand/translational.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田 啓道 (Hiromichi Wada)

独立行政法人国立病院機構

(京都医療センター臨床研究センター)・

展開医療研究部・研究室長

(先端医療技術開発)

研究者番号：20416209

(2) 研究分担者

佐藤 哲子 (Noriko Satoh)

独立行政法人国立病院機構

(京都医療センター臨床研究センター)・

糖尿病研究部・研究室長 (臨床代謝栄養)

研究者番号：80373512