

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591052

研究課題名(和文) 腹部大動脈瘤の病態解明と細胞内エネルギー制御による内科的治療法の基盤確立

研究課題名(英文) Pathogenesis of abdominal aortic aneurysm and role of glycolysis restriction as a potential medical therapy

研究代表者

鶴田 敏博 (Tsuruda, Toshihiro)

宮崎大学・医学部・講師

研究者番号：10389570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：待機的に人工血管置換術を施行予定の腹部大動脈瘤患者にPET-CTを施行し、18-fluoro-deoxy-glucose (FDG)の瘤壁内への取り込みの程度は、術中に採取した瘤壁内のグルコース・トランスポーター(GLUT)-3蛋白発現やマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-9と有意な正の相関がみられ、その局在は主に瘤壁内マクロファージであった。フォルボールエステルで刺激した培養マクロファージ細胞によるMMP-9活性はグルコースアナログである2-deoxyglucose (DG)により低下した。さらに、マウス腹部大動脈瘤モデルへ2-DGを1か月間投与したところ、瘤形成が抑制された。

研究成果の概要(英文)：Enhanced accumulation of the modified glucose analogue 18fluoro-deoxyglucose by positron emission tomography imaging in the human abdominal aortic aneurysm (AAA) was associated with protein expressions of glucose transporters-1 and -3, assessed by Western blot. The magnitude of glucose transporter-3 expression was correlated with matrix metalloproteinase (MMP)-9 activity, co-localized in macrophages of the aneurysmal wall. In monocytic cell line induced by phorbol 12-myristate 13-acetate, the inhibition of glucose transport or glycolysis abrogated the MMP-9 activity in these cells. Furthermore, the inhibition of glycolysis activity with the intra-peritoneal administration of 2-deoxyglucose significantly attenuated the dilatation of abdominal aorta induced by periaortic application of calcium chloride in C57BL/6J male mice or reduced the aneurysmal formation in angiotensin II-infused apolipoprotein E knockout male mice.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・臨床血管病態学

キーワード：血管生物学 マクロファージ 解糖系 動脈瘤

1. 研究開始当初の背景

腹部大動脈瘤は50歳以上の4 - 8%の男性、0.5 - 1.5%の女性に発症し、無症状のうちに進行し破裂に至る。詳細な発症、進展機序は不明であるが、中膜の壊死と細胞外基質の異常、中膜・外膜側のリンパ球やマクロファージを主体とした炎症像や新生血管の増生が病理組織学上の特徴である。瘤の破裂による死亡を防ぐために、人工血管置換術ないしはステント植え込み術が施行されるが、瘤拡大を抑制する有効な薬剤は皆無でその開発が望まれる。

われわれは腹部大動脈の外膜に分布する「マスト細胞数」が瘤径の拡大とともに増加すること、マスト細胞が欠損した動物モデルでは、実験的動脈瘤が形成されにくいこと、さらに元来、抗アレルギー薬として日常診療で用いられるマスト細胞膜安定化薬投与による同細胞の機能調節により瘤拡大を制御できることを報告した(Tsuruda T, et al. *Circ Res.* 2008; 102:1368-1377)。

Positron emission tomography-computed tomography (PET-CT)は18-fluoro-deoxy-glucose (FDG)の糖代謝が亢進した部位に集積することを利用した生体の機能画像とCTによる形態画像を重ね合わせたものであり、癌病変部位の正確な診断や治療評価を行うことができる。興味深いことに癌検診時のPET-CTで偶然に動脈硬化性腹部大動脈瘤壁へ18-FDGが集積することが報告され(*Eur J Vasc Endovasc Surg.*2002;23:431, *J Nucl Med.* 2005;46:1278)、瘤壁内の炎症細胞の糖代謝亢進を反映しているものと思われる。我々はこの性質を利用してPET-CTを腹部大動脈瘤の病態解明ならびに進展・破裂のリスクを含めた機能的評価に応用できないかと考えた。

2. 研究の目的

第1に腹部大動脈瘤壁の炎症基盤を

PET-CTで評価し、瘤壁の組織学的・分子生物学的な解析と併せて、腹部大動脈瘤の発症、進展・破裂の病態・機序を明らかにすることであった。第2に瘤壁内の炎症細胞(特にマクロファージ)の糖代謝に着眼し、グルコース・トランスポーター(glucose transporter, GLUT)や解糖系の制御により内科的治療法開発の基盤を確立することであった。

3. 研究の方法

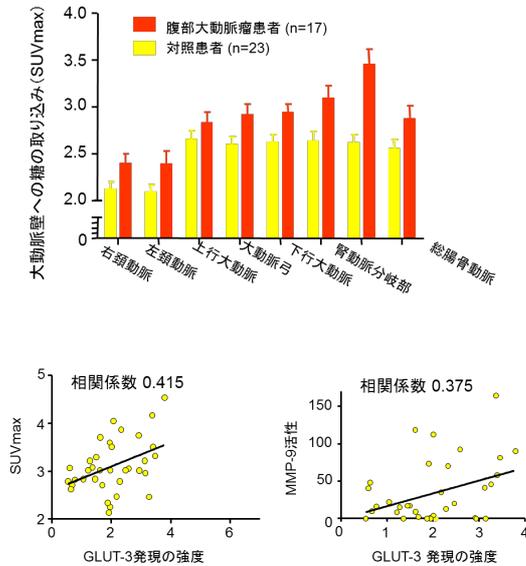
[1] 待機的に人工血管置換術を施行予定の患者に対してPET-CTを施行し、術中に腹部大動脈瘤壁の一部を採取した。PET-CT像から得られたグルコース利用(SUVmax)ならびに瘤最大径を計測し、動脈瘤壁内のGLUT発現およびマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)活性の程度と比較した。さらに動脈瘤壁内におけるGLUT 3発現の局在を免疫染色法で確認した。

[2] GLUT阻害ならびに解糖系の阻害による腹部大動脈瘤の進展抑制効果の有無について検討を行った。培養マクロファージやマウス動脈瘤モデルを用いてRNA干渉法による直接的なGLUT遺伝子発現抑制ないしはグルコース・アナログによる解糖系阻害を行った。

4. 研究成果

人工血管置換術を行う予定の腹部大動脈瘤患者17名にPET-CTを行ったところ、対照群(23名)と比べ18-FDGの取り込みが増加することを見出した(図1)。

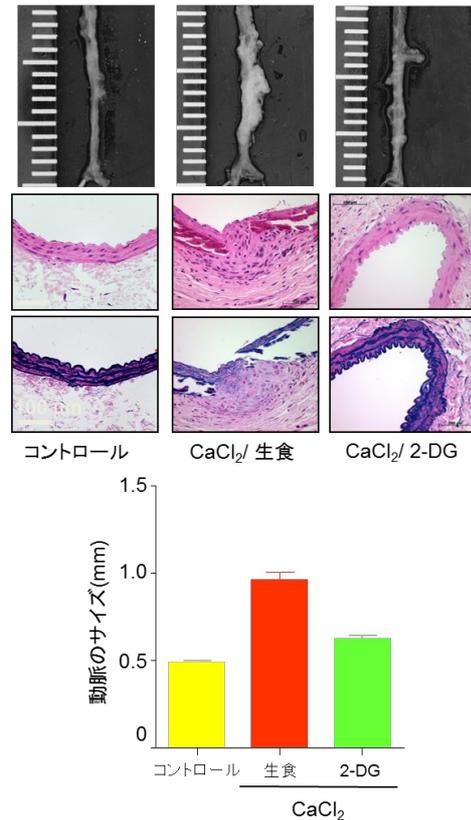
図1



また、術中に瘤壁を採取し、18-FDG 取り込み部位に対応した瘤壁の GLUT-3 の蛋白発現や MMP-9 活性の間には有意な相関のあることを見出した。GLUT-3 発現の主な細胞は CD68 陽性マクロファージであった。マクロファージは MMP-9 の主な産生源であり、腹部大動脈瘤の進展・破裂に与与することが知られる。そこで、われわれはマクロファージの糖代謝を制御することにより、動脈瘤の進展抑制効果を発揮できないかと仮説を立てた。培養マクロファージ細胞で RNA 干渉法により GLUT-3 遺伝子発現を 80% 低下させたが MMP-9 活性は不変で、GLUT-1 遺伝子発現が増加した。これは糖代謝を維持するため細胞内に代償性機構が存在する可能性が示唆された。一方、グルコース・アナログである 2 - デオキシグルコース(2-DG)を投与して細胞内解糖系を抑制すると、MMP-9 活性が低下した。また、マウス腹部大動脈周囲に塩化カルシウム(CaCl₂)を塗布すると動脈瘤が形成されるが、このモデルへ 28 日間、2-DG(1 g/day)を腹腔内投与すると瘤形成が抑制されることを見出した(図2)。2-DG による瘤形成抑制効果は、アポ E 欠損マウスを用いた腹部大動脈瘤モデルにおいても確認すること

ができた。これらの知見から、マクロファージの解糖系を制御することにより腹部大動脈瘤の進展を抑制できる可能性が示唆された。

図2



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2件)

1. Sakamoto S, Tsuruda T, Hatakeyama K, Shimosawa T, Asada Y, Kitamura K. Adrenomedullin does not contribute toward the development of abdominal aortic aneurysm. *Health*. 2014; 6: 1077-1084. (査読有)
2. Tsuruda T, Hatakeyama K, Nagamachi S, Sekita Y, Sakamoto S, Endo GJ, Nishimura M, Matsuyama M, Yoshimura K, Sato Y, Onitsuka T, Imamura T, Asada Y, Kitamura K. Inhibition of development of abdominal aortic aneurysm by glycolysis restriction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012; 32:1410-1417. (査読有)

〔学会発表〕(計7件)

1. 坂元紀陽、鶴田敏博、畠山金太、下澤達雄、浅田祐士郎、北村和雄：

- Adrenomedullin does not contribute toward the development of abdominal aortic aneurysm in mice. 第 17 回日本心血管代謝内分泌代謝学会学術総会, 2013 年 11 月 22 日 ~ 23 日 (大阪)
2. 郝 異琳、鶴田敏博、関田陽子、坂元紀陽、畠山金太、浅田祐士郎、北村和雄: Glucose metabolism in macrophages contributes to the development of atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice. 第 17 回日本心血管代謝内分泌代謝学会学術総会, 2013 年 11 月 22 日 ~ 23 日 (大阪)
 3. Tsuruda T, Sakamoto S, Sekita Y, Hatakeyama K, Imamura T, Asada Y, Kitamura K. Inhibition of glycolytic activity attenuates the development of abdominal aortic aneurysm in mice. 第 76 回日本循環器学会学術集会, 2012 年 3 月 16 ~ 18 日 (福岡)
 4. 鶴田敏博、北村和雄. マクロファージの糖代謝エネルギー制御により腹部大動脈瘤の進展を抑制できるかもしれない。第 15 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会. 2011 年 11 月 25 日 ~ 26 日 (大阪)
 5. Tsuruda T, Sakamoto S, Sekita Y, Hatakeyama K, Imamura T, Asada Y, Kitamura K. Inhibition of glycolytic activity in macrophages attenuates the development of abdominal aortic aneurysm in mice. European Society of Cardiology Congress 2011. August 27-31, 2011 (Paris, France).
 6. 関田陽子、鶴田敏博、北村和雄. 単核球 (U937) 細胞からのマトリックスメタロプロテアーゼ-9 産生におけるグルコース代謝の関与 第 75 回日本循環器学会学術集会, 2011 年 8 月 3 ~ 4 日 (横浜)
 7. Tsuruda T, Nagamachi S, Hatakeyama K, Sekita Y, Sakamoto S, Imamura T, Asada Y, Onitsuka T, Kitamura K. Increased Glycolysis Activity in Macrophages Contributes to the Progression of Abdominal Aortic Aneurysm. 第 75 回日本循環器学会学術集会, 2011 年 8 月 3 ~ 4 日 (横浜)

〔図書〕(計 1 件)

1. Sakamoto S, Tsuruda T, Hatakeyama K, Sekita Y, Imamura T, Asada Y, Kitamura K. Mast cell density and distribution in human abdominal aortic aneurysm, Etiology, Pathogenesis and *Pathophysiology of Aortic Aneurysms and Aneurysm Rupture*, Reinhart

Grundmann (Ed.), 2011; 55-66, InTech.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: マトリックスメタロプロテアーゼ活性抑制組成物

発明者: 鶴田敏博、北村和雄

権利者: 国立大学法人 宮崎大学

種類: 特許

番号: PCT/JP2011/069677

出願年月日: 2011.8.24

国内外の別: 国際出願

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鶴田 敏博 (TSURUDA, Toshihiro)

宮崎大学・医学部・講師

研究者番号: 10389570

(2) 研究分担者

北村 和雄 (KITAMURA Kazuo)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号: 50204912

畠山 金太 (HATAKEYAMA Kinta)

宮崎大学・医学部・准教授

研究者番号: 60325735

長町 茂樹 (NAGAMACHI Shigeki)

宮崎大学・医学部・准教授

研究者番号: 40180517

(3) 連携研究者

浅田祐士郎 (ASADA Yujiro)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号: 70202588