

平成 26 年 5 月 19 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670380

研究課題名(和文)大動脈瘤発生拡張予防剤の発見同定

研究課題名(英文)Identification of effective agent against abdominal aortic aneurysm formation

研究代表者

森田 啓行(Morita, Hiroyuki)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：60323573

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：長期間にわたって経口摂取可能で、大動脈瘤の発生拡張を抑制できる物質を同定することを目的に、植物由来化合物の中から候補物質を選び、その効果を大動脈瘤動物モデルで検証した。シソ・ピーマン葉由来のフラボノイドであるルテオリン経口投与は、有意な大動脈瘤形成抑制効果を発揮するが、その効果は血中濃度に依存するという結論が得られた。高いルテオリン血中濃度が得られるルテオリン-配糖体の方が、ルテオリン無配糖体に比べてさらに強い効果が得られた。有効血中濃度を保つ工夫、安全性の検証を経て、今後の臨床応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to identify plant-derived agent having a protective effect on the abdominal aortic aneurysm formation, which can be orally administered for a long period. As a result, oral administration of luteolin, which is a widely distributed flavonoid found in many herbal extracts, was demonstrated to inhibit significantly the abdominal aortic aneurysm formation in the experimental model. Also, these effects were observed in a dose-dependent manner. Further studies are warranted to draw the clear conclusions on the more appropriate quantity and method for intake of this powerful flavonoid.

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：大動脈瘤 ルテオリン フラボノイド

## 1. 研究開始当初の背景

大動脈瘤は大動脈の壁が緩くなって外側へと拡張する病態である。大動脈瘤はほとんど無症状で発生し拡張するがゆえに、破裂するまでは大動脈瘤を持っていることさえ気づかれないことも多い。破裂してしまうとショック状態に陥り緊急搬送されて救命手術がおこなわれるが、予後は概して不良である。現状での最善の対策は早期発見とこまめな経過観察、そして破裂前のバイパス手術である。申請者らはこれまで大動脈瘤の発生進展機序を理解し、その進展を抑制する物質を同定することを目的に研究を進めてきた。冠動脈疾患患者と非冠動脈疾患患者との比較では、「非冠動脈疾患患者では大動脈瘤の合併率こそ低いものの、一旦発生した瘤の拡張スピードは非冠動脈疾患患者でむしろ速い」という予想に反した臨床研究の結論を得ている(*Atherosclerosis* 2012; 222: 278)。血管の内腔にプラークが蓄積して狭窄をきたす動脈硬化病変と、血管壁が緩くなって外側へと拡張し破裂にいたる動脈瘤とはメカニズムに異なる部分があることが大いに示唆される。「糖尿病患者では動脈硬化は進むが、動脈瘤拡張速度はむしろ遅い」という既報の疫学データを考え合わせると、動脈硬化と動脈瘤とは似たような疾患ではけっしてなく、それゆえ動脈硬化の予防治療をそのまま動脈瘤の予防治療にあてはめることは適切でない。動脈瘤に特異的な治療は必ず存在するはずである。

しかしながら現状では JNK 阻害剤、PPAR 阻害剤注入や抗生物質のドキシサイクリン、遺伝子修飾をもって実験動物の大動脈瘤発症進展を抑えうるという報告が得られているに過ぎない。動脈硬化研究に比べてメカニズム解析、治療法開発いずれも遅れており、現在実験動物で有効性が確認されている治療法はいずれも、一般人口における予防的長期介入への応用にはきわめて不向きである。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、長期間にわたって経口摂取可能で、大動脈瘤の発生拡張を抑制できる物質を同定することである。植物由来化合物の中から候補物質を選び、その効果を大動脈瘤動物モデルで検証する。予備的検討で劇的な効果を呈したル

テオリン(フラボノイドの一種)一配糖体を筆頭に検証を開始する。さらにその分子機序を解明する。本研究は、大動脈瘤の発生進展機序解明に資するだけでなく、動脈硬化と動脈瘤との成因・病態生理の異同に関しても科学的知見をもたらす。

## 3. 研究の方法

大動脈瘤動物モデル(アポE 遺伝子欠損マウスホモにアンジオテンシン II を 4 週間皮下持続注入することにより腎動脈分岐部直上に大動脈瘤を形成する)に植物由来の化合物を経口で前投与し、生体内での大動脈瘤発生拡張抑制効果を評価する。

ApoE 遺伝子欠損マウスホモ型メス 13 週齢に普通餌ないしは標的化合物混合餌を 3 週間経口摂取させた後、持続注入用浸透圧ポンプを皮下に植え込み 4 週間のアンジオテンシン II 持続注入(1.0  $\mu$ g/min/kg)をおこなうと収縮期血圧が注入前の 110mmHg 程度から 160mmHg 程度へと上昇、腎動脈分岐部直上に大動脈瘤を形成することができる。アンジオテンシン II 持続注入を開始してから 1 週間に 1 回マウスの腹部エコー検査をおこない、腎動脈分岐部直上の大動脈短径を経時的にフォローアップする。4 週間後に心臓および大動脈の内腔を PBS 還流後、切離し、周囲の脂肪組織を除去し、撮像する。大動脈瘤形成部位を採取しホルマリン固定後病理組織像を観察する。特に弾性線維断裂に関して詳細な観察をおこなう。予備的検討で劇的な効果が判明したルテオリン一配糖体を筆頭に、各種植物由来化合物の効能を検討する。次いで、大動脈瘤発生拡張抑制効果にかかる分子機序を解明する。

## 4. 研究成果

予備的検討で劇的な効果を呈したルテオリン一配糖体、さらにルテオリン無配糖体を中心に検討を進めた。シソ・ピーマン葉由来のフラボノイドであるルテオリンはその抗酸化作用、抗炎症作用を通して抗動脈硬化作用をきたすことが既に知られている。ルテオリン一配糖体あるいは、ルテオリン無配糖体を配合した混合餌を 4 週間マウスに摂食させた後にアンジオテンシン II 負荷を施し、普通餌を摂食させた後にアンジオテンシン II 負

荷を施したマウス群と比較、ルテオリン一配糖体の劇的な瘤形成抑制効果を確認した。ルテオリン無配糖体でも有意な効果は得られるが、ルテオリン一配糖体と比較して体内への吸収効率が劣るため、やや効果は弱かった。ルテオリンは有意な大動脈瘤形成抑制効果を有するが、その効果は血中濃度に依存するという結論が得られた。ルテオリン以外の植物由来化合物に関しても同じ動物モデルを用いて検証したが、有意な瘤発生拡張抑制作用は認められなかった。

さらに、瘤病理組織の検討によると、ルテオリン摂取群では大動脈壁弾性線維断裂像がほとんど観察されなかった。分子生物学的検討では、ルテオリンが大動脈壁組織でのTGF- $\beta$  発現を抑えることにより抗線維化作用を発揮していることが明らかになった。ルテオリンは従来の報告により、肺、肝臓における抗線維化作用が示されており、ルテオリンの有する抗線維化作用が大動脈瘤発生抑制効果と強く関連している可能性がある。

本研究を通して、経口ルテオリン投与が大動脈瘤形成拡張を抑制することを確認できた。有効血中濃度を保つ工夫、安全性の検証を経て、今後の臨床応用が期待される。

#### 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 9 件)

##### 1. Morita H.

Human genomics in cardiovascular medicine; implications and perspectives. *Circulation Journal* 77: 876-885, 2013

##### 2. Nakayama A, Morita H, Ando J, Fujita H, Ohtsu H, Nagai R.

Adverse cardiovascular outcomes associated with concurrent use of clopidogrel or ticlopidine and proton-pump inhibitors in patients undergoing percutaneous coronary intervention.

*Heart and Vessels* 28: 292-300, 2013

##### 3. Nakao T, Morita H, Maemura K, Amiya E, Inajima T, Saito Y, Watanabe M, Manabe I, Kurabayashi M, Nagai R, Komuro I.

Melatonin ameliorates Angiotensin II-induced vascular endothelial damage via its antioxidative properties.

*Journal of Pineal Research* 55: 287-293, 2013

##### 4. Kimura K, Takenaka K, Ebihara A, Uno K, Morita H, Nakajima T, Ozawa T, Aida I, Yonemochi Y, Higuchi S, Motoyoshi Y, Mikata T, Uchida I, Ishihara T, Komori T, Kitao R, Nagata T, Takeda S, Yatomi Y, Nagai R, Komuro I.

Prognostic impact of left ventricular noncompaction in patients with Duchenne/Becker muscular dystrophy-prospective multicenter cohort study-

*International Journal of Cardiology* 168: 1900-1904, 2013

##### 5. Morita H, Komuro I.

A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension.

*New England Journal of Medicine* 369: 2161-2162, 2013

##### 6. Morita H.

Genetic variants and dilated cardiomyopathy – To be or not to be causative: Is that the question? –

*Circulation Journal* 77: 2879-2880, 2013

##### 7. Nakayama A, Morita H, Miyata T, Hoshina K, Nagayama M, Takanashi S, Sumiyoshi T, Komuro I, Nagai R.

Predictors of mortality after emergency or elective repair of abdominal aortic aneurysm in a Japanese population.

*Heart and Vessels* 29: 65-70, 2014

##### 8. 森田啓行, 山田奈美恵, 小室一成 肥大型心筋症の遺伝子診断：推進に向けての方策

日本内科学会雑誌 102 (5): 1233-1242, 2013

##### 9. 森田啓行

遺伝子から心筋症をみる

日本内科学会雑誌 103 (2): 285-292, 2014

[学会発表](計 1 件)

##### 1. 森田啓行

Identification of novel susceptibility loci for myocardial infarction using large-scale genomic analysis.

2014.3 (東京)

第78回日本循環器学会学術集会

[図書](計 2 件)

##### 1. 森田啓行

内科学第10版 (朝倉書店 2013) Page 422-424.

5-4 循環器疾患と遺伝子異常

2) 心筋症

2. 森田啓行, 永井良三

内科学書改訂第 8 版 (中山書店 2013)

Page 293-296.

循環器疾患と遺伝子異常

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

森田啓行 (東京大学医学部附属病院特  
任准教授)

研究者番号 : 60323573

(2)研究分担者

中山敦子 (東京大学医学部附属病院助  
教)

研究者番号 : 60529147