

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 5 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462105

研究課題名(和文) 腹部大動脈瘤の瘤壁における刷り応力と血管新生、リンパ管新生との関連について

研究課題名(英文) Relationship between wall shear stress and angiogenesis, lymphangiogenesis in abdominal aortic aneurysm

研究代表者

犬塚 和徳 (INUZUKA, Kazunori)

浜松医科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00397415

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：大動脈瘤壁の組織学的検査では、内膜と中膜に慢性炎症と血管新生・リンパ管新生が起きていることが判明した。大動脈瘤壁のICG蛍光造影検査でリンパ液の停滞が著しい部位は、組織学的にも炎症細胞が多く観察され、リンパ管新生とリンパ管停滞が目立った。慢性炎症とリンパ管新生が大動脈瘤の発生や増大に関連していることが示唆された。

一方、壁すり応力の分布とリンパ管新生や慢性炎症との関連性は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：Histological examination revealed chronic inflammation and angiogenesis / lymphangiogenesis in the intima and tunica media of the aortic aneurysm. Inflammatory cells, lymphangiogenesis, and lymphatic stasis were histologically observed in sites where lymphatic luminescence was remarkably evoked by ICG fluorescence imaging examination of the aortic wall. It was suggested that chronic inflammation and lymphangiogenesis are related to development and increase of aortic aneurysm. The distribution of wall shear stress was not related to lymphangiogenesis or chronic inflammation.

研究分野：血管外科

キーワード：血管外科 腹部大動脈瘤 MRI すり応力 リンパ管 血管新生 リンパ管新生 蛍光造影

1. 研究開始当初の背景

腹部大動脈瘤 (AAA) の形成と破裂のメカニズムは明らかでない。一説に動脈壁内の慢性炎症によるマトリックスの破壊と壁の脆弱化が関与すること、慢性炎症の下では血管新生とリンパ管新生がおこり、炎症の持続、増悪に関与することが報告されている。一方、瘤壁に血流力学的に負荷が強くなっている部位が破裂に至りやすい可能性が指摘されている。近年開発された MRI の画像解析方法である 4D (dimensional) - flow は、MRI を心拍周期に同期して撮影することにより、血流による位相のずれを信号強度の変化として捉えることができ、そこから壁に及ぼす刷り応力 (Shear stress) などを計算し、3次元画像として描出ができる。

AAA 壁における組織学的変化、血流力学的影響が相互に AAA 増大や破裂に関与している可能性がある。これらを解明することが、将来の AAA 治療薬の開発などに貢献できるかもしれない。

2. 研究の目的

過去に採取し、凍結保存してあるヒトの大動脈瘤組織切除標本を用いて、壁の炎症に伴って起きている血管新生とリンパ管新生について組織学的に検討する。

AAA 患者の術前に新しい画像診断 modalitiy である MRI を用いた 4D-flow 解析法により瘤壁に加わる刷り応力 (shear stress) を分析する。人工血管置換術の術中に採取した大動脈瘤組織切除標本を用いて、壁の炎症に伴って起きている血管新生とリンパ管新生について組織学的に評価し、MRI 4D-flow の解析結果との関連を検討する。

3. 研究の方法

過去の AAA 術中切除標本を用いて、大動脈瘤壁における血管新生、リンパ管新生の有無を組織学的に検討する。AAA 病変部 10 例、剖検例正常大動脈 10 例。血管新生、リンパ管新生ともに血管内皮細胞標識抗体 (CD31)、リンパ管内皮標識抗体 (podoplanin) を用いて、免疫組織学的検討を行うとともに、更に新生因子である VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3、VEGF-A、VEGF-C の染色と RT-PCR を行い、新生が活発に起きている部位について検討する。

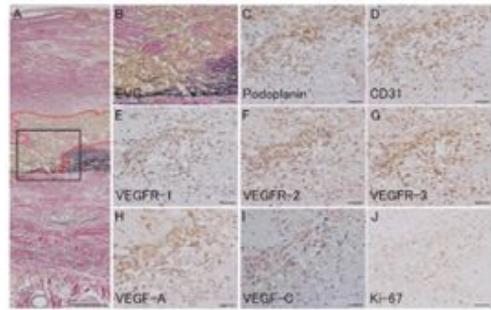
動脈瘤壁におけるリンパ管循環を術中に ICG 蛍光リンパ管造影を行い、in vivo で観察する。人工血管置換術を行う AAA 患 16 名が対象。手術開始と同時に両側鼠蹊部にインドシアニングリーン (ICG) 蛍光試薬を皮下注射し、術中に近赤外線カメ

ラ PDE にて AAA 壁を観察する。同時に、AAA 切除標本でリンパの停滞の有無と ICG 停滞部との関連を評価する。

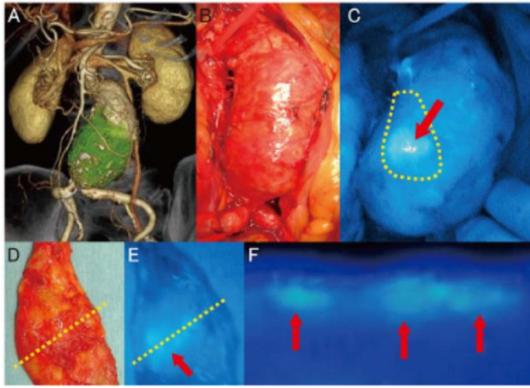
手術前 AAA 患者に MRI 4D-flow にて瘤壁内の刷り応力 (Wall shear stress: WSS) および単位時間あたりの刷り応力の変動値 (Oscillatory shear index: OSI) を測定する。人工血管置換術を行う AAA 患 16 名が対象。術中に切除採取した動脈瘤壁標本における病理組織学的所見と WSS や OSI の測定値との関連について検討を行う。

4. 研究成果

AAA 壁の血管新生について、EVG 染色で Podoplanin 陽性 + CD31 陽性微小脈管が中内膜に高発現していた。VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3、も有意に高値であり VEGF-A あるいは VEGF-C 陽性細胞も微小脈管の内外に多く見られた。Real-time PCR 解析で、AAA 壁組織に有意に VEGF-A、VEGF-C、VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3 の mRNA 発現が高かった。一方、AAA 壁のリンパ管新生に関しては、免疫染色で外膜の podoplanin の発現に差は認めなかった。内膜では lymphatic microvessel area が対象群では $1.3 \pm 0.4\%$ であったのに対し AAA 群では $4.5 \pm 0.4\%$ と有意に高かった。以上の結果から、AAA 瘤壁の内中膜の慢性炎症に伴い、より血管新生・リンパ管新生が起きていることが判明した。



16 例中 11 例の瘤壁で PDE 観察により ICG の停滞 (蛍光発光) の著しい部位を同定できた。発行部位は個体差があったが、肉眼的に瘤の最も突出した部位が集中的に目立った。動脈瘤切除後、蛍光強発光部を組織学的に評価した。切片標本を近赤外光法による蛍光顕微鏡で観察すると内中膜で強い発光が見られた。EVG 染色、Podoplanin 免疫染色標本でも同様の所見が得られた。さらにリンパ管周囲には炎症細胞・マクロファージが正常部に比して多く観察された。以上から、AAA 壁の最大拡張部の内中膜を中心にリンパ管新生とリンパ管停滞が起きていること、慢性炎症を随伴していることが確認された。



の検討でリンパ管新生・リンパうっ滞が豊富に起きている AAA 壁、ほとんど見られなかった AAA 壁、正常大動脈の 3 か所に分け、術前の WSS と OSI の 1 心拍当たりの平均値、最大値、変化率を比較したが、有意差は認めなかった。ICG 発光光度と WSS、OSI との相関関係も認められなかった。以上から AAA 壁で起きているリンパ管新生やリンパうっ滞と瘤内腔にかかる血流力学的影響との関連を示すことはできなかった。しかし、AAA 増大や破裂において、リンパうっ滞や血流力学的影響が各々で関連している可能性は検討の余地が残っている。

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)

Sano M, Sasaki T, Hirakawa S, Sakabe J, Ogawa M, Baba S, Zaima N, Tanaka H, Inuzuka K, Yamamoto N, Setou M, Sato K, Konno H, Unno N. Lymphangiogenesis and angiogenesis in abdominal aortic aneurysm. PLoS One. 査読有 20;9(3) 2014.

Unno N, Yamamoto N, Inuzuka K, Mano Y, Sano M, Saito T, Sugisawa R, Katahashi K, Konno H. Early outcomes of iliac branch grafts in the endovascular repair of abdominal aortic aneurysms with concomitant bilateral common iliac artery aneurysms at a Japanese institution. Surg Today. 査読有 2015 45(6):688-94

Saito T, Unno N, Yamamoto N, Inuzuka K, Tanaka H, Sano M, Sugisawa R, Katahashi K, Konno H. Low Lymphatic Pumping Pressure in the Legs Is Associated with Leg Edema and Lower Quality of Life in Healthy Volunteers.

Lymphat Res Biol. 査読有 2015 13(2):154-9.

Unno N, Yamamoto N, Higashiura W, Inuzuka K, Sano M, Konno H. Utility of a preloaded fenestrated graft in thoracoabdominal aneurysm repair. Asian Cardiovasc Thorac Ann. 査読有 2015 24.

Tanaka H, Zaima N, Sasaki T, Sano M, Yamamoto N, Saito T, Inuzuka K, Hayasaka T, Goto-Inoue N, Sugiura Y, Sato K, Kugo H, Moriyama T, Konno H, Setou M, Unno N. Hypoperfusion of the Adventitial Vasa Vasorum Develops an Abdominal Aortic Aneurysm. PLoS One. 査読有 2015 26;10(8)

Tanaka H, Zaima N, Sasaki T, Yamamoto N, Inuzuka K, Sano M, Saito T, Hayasaka T, Goto-Inoue N, Sato K, Kugo H, Moriyama T, Konno H, Setou M, Unno N. Imaging Mass Spectrometry Reveals a Unique Distribution of Triglycerides in the Abdominal Aortic Aneurysmal Wall. J Vasc Res. 査読有 2015 52(2):127-35

Tanaka H, Zaima N, Sasaki T, Yamamoto N, Inuzuka K, Sano M, Konno H, Urano T, Setou M, Unno N. Characteristic Distribution Pattern of Lysophosphatidylcholine in Fibromuscular Dysplasia-Associated Visceral Artery Aneurysms Compared with Atherosclerotic Visceral Artery Aneurysms. J Atheroscler Thromb. 2016 査読有 23(6):673-80

Sugisawa R, Unno N, Saito T, Yamamoto N, Inuzuka K, Tanaka H, Sano M, Katahashi K, Uranaka H, Marumo T, Konno H. Effects of Compression Stockings on Elevation of Leg Lymph Pumping Pressure and Improvement of Quality of Life in Healthy Female Volunteers: A Randomized Controlled Trial. Lymphat Res Biol. 査読有 2016 14(2):95-10

Sakata M, Takehara Y, Katahashi K, Sano M, Inuzuka K, Yamamoto N, Sugiyama M, Sakahara H, Wakayama T, Alley MT, Konno H, Unno N. Hemodynamic Analysis of Endoleaks After Endovascular Abdominal Aortic

Aneurysm Repair by Using
4-Dimensional Flow-Sensitive
Magnetic Resonance Imaging. Circ J.
2016 査読有 80(8):1715-25. doi:
10.1253/circj.CJ-16-0297.

〔学会発表〕(計 12件)

犬塚和徳、腹部症状を有する孤立性腹部
内臓動脈瘤解離 10 例の検討、日本外科
学会、2014 4、京都

犬塚和徳、光電式容積脈波法を用いた透
析シャント盗血症候群に対する術中手
指血圧の評価、日本血管外科学会、2014
5、青森

犬塚和徳、中枢ネックの IFU 外症例に対
するステントグラフト内挿術の治療成
績：第 43 回日本血管外科学会学術総
会、2015/6/3、横浜

犬塚和徳、破裂性腹部大動脈瘤に対す
るステントグラフト内挿術の治療経験
～緊急時デバイス入手困難な施設での
現状～：第 21 回血管内治療学総会、
2015/7/24、名古屋

犬塚和徳、孤立性上腸間膜動脈解離の解
剖学的特徴についての検討：第 56 回日
本脈管学会総会、2015/10/30、東京

犬塚和徳、症候性孤立性上腸間膜動脈解
離の解剖学的特徴：第 52 回日本腹部救
急医学会総会、2016/3/4、東京

犬塚和徳、Hostile neck を有する腹部大
動脈瘤に対するステントグラフト内挿
術の治療成績：第 116 回日本外科学会定
期学術集会、2016/4/15、大阪

犬塚和徳、孤立性上腸間膜動脈解離の好
発部位に関する血流力学的検討：第 44
回日本血管外科学会学術総会、
2016/05/27、東京

犬塚和徳、前腕の尺側皮静脈転位による
透析用ブラッドアクセスの早期成績：第
36 回日本静脈学会総会、2016/6/24、青
森

Inuzuka K, Hemodynamic studies of
superior mesenteric arteries to
identify underlying causes of the
spontaneous isolated dissections
using flow-sensitive
four-dimensional magnetic resonance
imaging. 27th World Congress of the
International Union of Angiology :
2016/10/7, Lyon, France

犬塚和徳、スチール症候群に対する光電
式容積脈波法を用いた術中手指血圧の
評価：第 20 回日本アクセス研究会学術
集会、2016/11/12、熊本

犬塚和徳、前腕尺側皮静脈を用いたバス
キュラーアクセスの成績と意義：第 47
回日本心臓血管外科学会学術総会、
2017/2/27、東京

〔図書〕(計 1件)

今野弘之、海野直樹、犬塚和徳、他、メジ
カルビュー社、消化器外科医に必要なちょっ
と先いく画像診断、2015、240 ページ

〔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

6. 研究組織

(1)研究代表者
犬塚 和徳 (INUZUKA, Kazunori)
浜松医科大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：00397415

(2)研究分担者
海野 直樹 (UNNO, Naoki)
浜松医科大学・医学部・准教授
研究者番号：20291958

(3)連携研究者
()
研究者番号：

(4)研究協力者
()