岡山医学会雑誌　第131巻　December 2019, pp. 123-125

受賞対象論文

Umebayashi R, Uchida HA, Kakio Y, Subramanian V, Daugherty A, Wada J : Cilostazol Attenuates Angiotensin II-Induced Abdominal Aortic Aneurysms but Not Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol (2018) 38, 903-912.

梅　林　亮　子
Ryoko Umebayashi

岡山大学病院　腎臓・糖尿病・内分泌内科
Department of Nephrology, Rheumatology, Endocrinology and Metabolism, Okayama University Hospital

<プロフィール>

昭和55年生まれ
平成17年３月　岡山大学医学部医学科卒業
平成17年４月　三豊総合病院 初期研修医
平成19年４月　倉敷中央病院 腎臓内科 後期研修医
平成22年４月　岡山大学病院 腎臓・糖尿病・内分泌内科 医員
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程入学
平成30年６月　岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程修了
現在に至る

研究の背景と経緯

平成23年から腎・免疫・内分泌代謝内科学の大学院生として研究を始めました．槇野博史前教授の勧めで内田治仁先生のご指導の下，テーマは腹部大動脈瘤となりました．専門は腎臓内科だったため，ガイドラインの知識しかありませんでしたが，大動脈瘤・大動脈解離診療ガイドライン2011には「50㎜以上のサイズになった腹部大動脈瘤は外科的治療が優先し，30～50㎜の大動脈瘤の拡張をいかに抑えるかという点においては，明らかに有効な治療薬はまだ開発されていない.」とあり興味を持ちました．

腹部大動脈瘤の成因・病態に関しては様々なことが言われています. ヒトの腹部大動脈瘤は疫学的に加齢，性別，喫煙，家族歴等と関連があり，病態としては，炎症と酸化ストレスによりマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）の活性化に伴う中膜弾性板の破壊，血管平滑筋細胞の喪失が起こり血管系の拡大が起こると考えられています．腹部大動脈瘤の疾患モデルは複数ありますが，内田先生の留学先の教室で作成されたアンジオテンシンⅡ（AngⅡ）モデルを用いて，研究を開始しました．しかし，このモデルは動脈瘤形成機序が完全には解明されていないという問題点もあり[1,2]，和田教授からはこのモデル自体の検討もできたらよいねとご意見をいただいていました．本研究では，AngⅡモデルにホスホジエステラーゼⅢ（PDEⅢ）阻害薬のシロスタゾールを投与してその効果を検討しました．シロスタゾールは，末梢動脈疾患や脳梗塞に適応がある抗血小板薬です．基礎研究のレベルではシロスタゾールは血小板凝集抑制作用の他に HDL コレステロール上昇作用や中性脂肪の低下作用などの脂質への影響や血管内皮細胞の透過性抑制，MCP-1 放出抑制，NO 産生増加作用，血管平滑筋細胞の増殖抑制作用などが報告されており，動脈瘤への効果も期待できる薬剤でした．

研究成果の内容

１．シロスタゾールの腹部大動脈瘤，動脈硬化への影響の検討

初めに AngⅡモデルでのシロスタゾールの効果を検討しました．シロスタゾール混餌を開始後，AngⅡの全身投与を開始し，血管径と，血管径の1.5倍以上拡張を動脈瘤の発症と定義して解析しました．実験終了時のマウスのシロスタゾール血中濃度は成人男性にシロスタゾール100㎎を単回投与した際の12時間から24

時間後の血中濃度とほぼ同等の値でした．大動脈径はAngⅡ投与群で有意に拡張し，AngⅡとシロスタゾールを投与した群ではこの拡張が不完全ながらも抑制されていました．また，大動脈瘤の発生率もシロスタゾール投与群で有意に抑制されていました．しかしながら，動脈瘤の破裂は両群で同程度発生していました．

2．腹部大動脈の組織学的変化

次いで，腹部大動脈の弾性板の状態をVöerhoeff染色で評価しました．AngⅡ投与群では明らかに中膜の弾性板が断裂していましたが，シロスタゾール投与群ではこれが抑制されていました．さらに，弾性板の断裂を引き起こすMMP-9を分泌するマクロファージの浸潤をCD68染色で評価したところ，AngⅡ投与群では中膜弾性板の断裂部位にCD68陽性細胞が多数認められたのに対し，シロスタゾール投与群ではこれが抑制されていました．以上よりシロスタゾールの投与によりマクロファージの中膜への浸潤と弾性板の断裂が抑制されていることがわかりました．

3．腹部大動脈瘤形成に関与するマトリックスメタロプロテアーゼ活性と炎症性サイトカインの変化の検討

ゼラチンザイモグラフィーを用いて組織中のMMP-2および-9の活性を検討しました．MMP-2，-9共にシロスタゾールを投与した群で活性型が減少していました．さらに，腹部大動脈のリアルタイムPCRではMCP-1，IL-βなどの炎症性サイトカインが抑制されていることが示されました．

4．シロスタゾールの腹部大動脈壁における作用点

以上から，AngⅡモデルマウスにおいてシロスタゾールは動脈瘤形成の初期段階に起こる炎症とマクロファージの血管中膜への浸潤を抑制している可能性が示されましたが，既報ではホスホジエステラーゼⅢは血管内皮細胞，血管平滑筋細胞いずれにも発現していることが報告されていました．そこで，PDEⅢに対する免疫染色を行い，AngⅡモデルでのPDEⅢの発現部位を検討しました．結果，血管中膜に多少の染色性を認めるものの主に血管内皮細胞に染色性を認めたため，その後の検討は血管内皮細胞に焦点をあてることとしました．

5．血管内皮細胞におけるシロスタゾールの作用

血管内皮細胞をAngⅡモデルマウスから単離培養し，炎症によって起こる内皮の反応を単球走化性因子と接着分子について検討しました．結果シロスタゾールは培養細胞においてもこれらの因子の発現を抑制することが確認できました．さらに，この作用がPDEⅢ阻害によるものかどうかを確認する目的で，PDEⅢ阻害薬と同様に細胞内cAMPを増加させるフォルスコリンを添加して検討したところ，フォルスコリン投与により，血管内皮細胞での単球走化性因子と接着分子の遺伝子発現量は減少し，さらに，cAMPのエフェクター蛋白の一つであるプロテインキナーゼA（PKA）を阻害する薬剤のH89を投与したところ，シロスタゾールの作用が打ち消されたことから，シロスタゾールはcAMP-PKA経路を介して血管内皮細胞の炎症に対する単球走化性因子と接着分子の発現を抑制することが示唆されました．動物実験の結果も含めると，シロスタゾールはAngⅡ腹部大動脈瘤モデルマウスの大

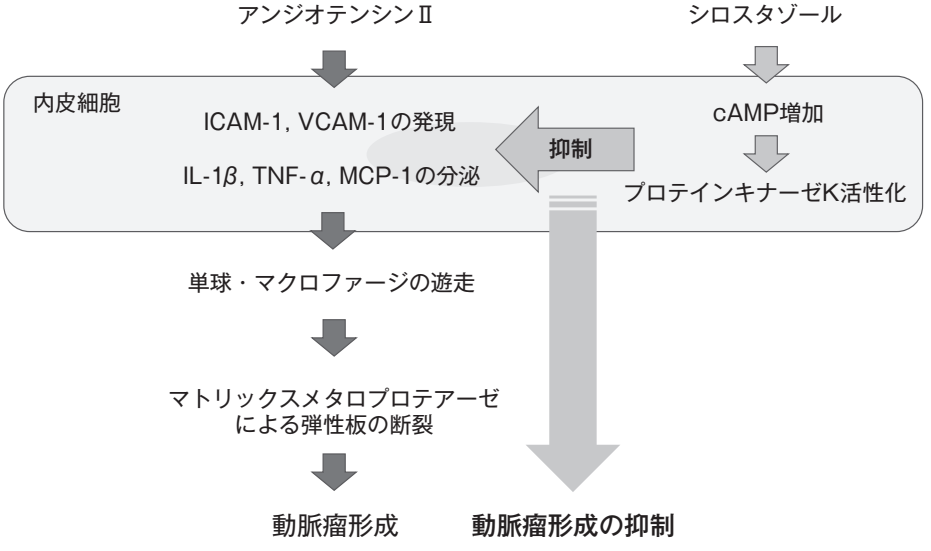

図　本研究の動脈瘤抑制機序

動脈において，血管内皮細胞での炎症，マクロファージの血管外への遊走を抑制することで，血管壁の炎症，MMPの活性化を抑制し腹部大動脈瘤形成に抑制的に作用したという結論に至りました（図）．

研究成果の意義

本研究は，マウスでの検討ではありますが，すでに臨床応用されている薬剤が腹部大動脈瘤形成に抑制的作用することを示せたことが最も大きな点と考えています．これまで，他の抗血小板薬を用いた検討では炎症の首座となる壁在血栓を抑制することで，腹部大動脈瘤の拡張を抑制したという動物実験が複数報告されています．しかしながら，大規模な臨床研究では抗血小板薬の腹部大動脈瘤抑制効果は証明されていません．今回の報告では抗血小板薬としてのシロスタゾールの作用ではなくPDEⅢ阻害薬としての作用で腹部大動脈瘤の形成が抑制されたことを示すことができました．また，ほかのグループの報告でもシロスタゾールが酸化ストレスを軽減することでMMPの活性化を抑制し腹部大動脈瘤に抑制的に作用したという報告もあります．PDEⅢ阻害薬としての抗血小板薬が腹部大動脈瘤に対して臨床上有効かどうかは今後の検討が待たれます．

今後の展望や展開

本研究では動物実験でシロスタゾールが腹部大動脈瘤の発症・進展が抑制したことを報告しましたが，日常臨床では腹部大動脈瘤をすでに有する患者が治療対象となりえます．将来的には末梢動脈疾患や脳梗塞の二次予防のためシロスタゾールをすでに内服している患者や，腹部大動脈瘤を有する患者での検討が必要になると考えますが，まずは基礎研究ですでに発生している腹部大動脈瘤に対してシロスタゾールが瘤の拡大もしくは破裂を抑制するかどうかの検討を先に行う必要があると考えています．

文　　献

1）Uchida HA, Poduri A, Subramanian V, Cassis LA, Daugherty A : Urokinase-type plasminogen activator deficiency in bone marrow-derived cells augments rupture of angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysms. Arterioscler Thromb Vasc Biol（2011）31，2845-2852.

2）Uchida HA, Sugiyama H, Takiue K, Kikumoto Y, Inoue T, et al. : Development of angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysms is independent of catalase in mice. J Cardiovasc Pharmacol（2011）58，633-638.

令和元年6月24日受稿

〒700-8558　岡山市北区鹿田町2－5－1
電話：086-235-7235　FAX：086-222-5214
E-mail：umebayashi.r@okayama-u.ac.jp