

学 位 論 文 要 旨

氏 名

高橋 佳世

論 文 名

レクチン様酸化 LDL 受容体 (LOX-1) 遺伝子欠損は大動脈外膜における線維芽細胞及びコラーゲンの増殖を抑制し腹部大動脈瘤破裂を促進する

学位論文要旨

腹部大動脈瘤は、多くの場合無症状で経過するが、破裂すると致死率の高い疾患である。早期発見及び進行を抑制することが重要であるが、瘤の拡大を抑制する有効な治療法は確立されていない。過去の報告から、腹部大動脈瘤は、大動脈壁内に生じた炎症の過程で壁構造が破壊され、局所的な血管拡張が生じることで発症すると報告されており、病変部では、多くの場合動脈硬化が存在している。また、年齢、男性、喫煙、高血圧など、腹部大動脈瘤と動脈硬化の危険因子には、共通する因子が多く存在することが分かっており、動脈硬化は腹部大動脈瘤の病態に関与していると考えられる。

近年、レクチン様酸化 LDL 受容体(LOX-1)は、炎症や動脈硬化における重要な因子とされ、酸化 LDL と結合し、血管内皮の活性化や炎症細胞浸潤、様々なサイトカイン、マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)の放出などを促進することが分かっている。これらの作用は、腹部大動脈瘤の病態とも類似しているが、腹部大動脈瘤発生における LOX-1 の役割については明らかとなっていない。そこで、LOX-1 遺伝子欠損が炎症や動脈硬化を抑制することにより腹部大動脈瘤の発生を抑制するとの仮説を立て、動脈硬化の実験モデルマウスであるアポリポタンパク E 欠損 (ApoE KO)マウスを使用したアンジオテンシン II (Ang II) 誘導性腹部大動脈瘤モデルを作成し検討を行った。この動物実験は、愛媛大学医学部の倫理委員会によって承認されている(承認番号: 05-TA-49-16)。

8週齢、雄性の ApoE KO マウス、ApoE KO マウスに LOX-1 をヘテロ欠損またはホモ欠損させたマウス(LOX hetero/ApoE KO マウス、LOX-1/ApoE DKO マウス)に Ang II 1.44 mg/kg/day を浸透圧ミニポンプ 4 週間持続投与による腹部大動脈瘤病態モデルを作成し、腹部大動脈瘤の発症率を比較した。ApoE KO マウスでは、51.3%で腹部大動脈瘤が発生したが、LOX hetero/ApoEKO マウス、LOX-1/ApoE DKO マウスではそれぞれ 56.7%、55.6%と、LOX-1 欠損により腹部大動脈瘤の発症は抑制されなかった(P=0.89)。しかし、腹部大動脈瘤の重症度を分類すると、ApoE KO マウスでは、軽症例(腎動脈上部が拡張のみ)が約半分を占めていたのに対し、LOX-1/ApoE DKO マ

ウスでは、腎動脈上部が著明にリモデリング、あるいは瘤が複数存在する重症例及び大動脈瘤破裂による死亡例を多く認めた (ApoE KO マウス死亡率 15.4%, LOX-1/ApoE DKO マウス死亡率 2.5%, $P=0.03$)。腹部大動脈瘤における動脈硬化の関与について検討するため、採取した大動脈を長軸方向に切開し、動脈硬化病変を Oil Red O で染色した。大動脈全体における動脈硬化の範囲は、ApoE KO マウス、LOX-1/ApoE DKO マウスいずれの群においても、約 25% であり、両群間で有意差を認めなかった。一方、腹部大動脈瘤病変部位では、両群とも全体の 80% 以上の領域に動脈硬化の存在を認めた。次に動脈硬化の発症・進展や腹部大動脈瘤の病態に関与していると報告されている MMP-2 及び MMP-9 活性を、ゼラチンザイモグラフィを用いて評価した。ApoE KO マウス、LOX-1/ApoE DKO マウスそれぞれ 3 匹ずつ、生理食塩水投与あるいは Ang II を投与し腹部大動脈瘤を発症したマウスから腹部大動脈組織を採取し、比較検討を行った。Pro MMP-2 及び MMP-2 活性は、2 群間で差を認めなかったが、LOX-1/ApoE DKO マウスの pro MMP-9 活性は、ApoE KO マウスと比較し有意な低下を認めた。さらに、組織学的検討では、LOX-1/ApoE DKO マウスの腹部大動脈瘤病変部位において、外膜のコラーゲン増生が ApoE KO マウスと比較し低下し、外膜の厚さが有意に低下していた (ApoE KO マウス $144.4 \pm 54.2 \mu\text{m}$, LOX-1/ApoE DKO マウス $90.6 \pm 25.2 \mu\text{m}$, $P=0.02$)。腹部大動脈病変部位における免疫染色では、線維芽細胞を標識する S100A4 陽性領域は、ApoE KO マウスと比較し、LOX-1/ApoE DKO マウスで有意に低下していた (ApoE KO マウス $22.9 \pm 4.2\%$, LOX-1/ApoE KO マウス $17.9 \pm 3.4\%$, $P=0.04$)。さらに、血管のリモデリングや線維化に関与すると報告されている筋線維芽細胞を α 平滑筋アクチン抗体を用いた免疫染色で評価したところ、LOX-1/ApoE DKO マウス ($15.2 \pm 7.5\%$) で有意な発現低下を認めた (ApoE KO マウス $43.3 \pm 13.2\%$, $P=0.0008$)。ApoE KO マウス及び LOX-1/ApoE DKO マウスの腹部大動脈から線維芽細胞を採取培養し、その増殖率を *in vitro* 実験系で比較した。ApoE KO マウスの大動脈から採取した線維芽細胞は、時間経過と共に持続的増殖が認められたのに対して、LOX-1/ApoE DKO マウス由来の線維芽細胞は、7 日目以降に増殖率が低下した。また培養線維芽細胞に Ang II 刺激 (0, 10, 100, 1000 nM) を行うと、ApoE KO マウス由来線維芽細胞では濃度依存的に増殖を認めたのに対し、LOX-1/ApoE DKO マウス由来線維芽細胞では増殖能の低下を認めた。

以上の結果より、LOX-1 遺伝子欠損は、大動脈外膜での線維芽細胞の増殖及びコラーゲン増生を抑制することにより、腹部大動脈瘤を重症化させることが示唆された。今後、腹部大動脈瘤の病態メカニズム解明に寄与すると共に、新しい治療の発展につながることを期待される。

<p>キーワード (3~5)</p>	<p>腹部大動脈瘤、レクチン様酸化LDL受容体LOX-1、線維芽細胞、コラーゲン、筋線維芽細胞</p>
--------------------	---