

学 位 論 文 要 旨

博士課程 甲・乙	第 号	氏 名	中村 恵理子
<p>[論文題名]</p> <p>“Altered choline level in atherosclerotic lesions: upregulation of choline transporter-like protein 1 in human coronary unstable plaque” 「動脈硬化プラークの不安定化における代謝産物コリンとその細胞内輸送タンパクの関与」</p> <p>PLOS ONE, in press, 35 pages</p>			
<p>[要 旨]</p> <p>【目的】</p> <p>虚血性心疾患は世界中の死因の上位であり、その主となる病態が動脈硬化症とその合併症である。冠動脈の動脈硬化は、ゆっくりと進行するが、血栓形成により不安定狭心症や急性心筋梗塞を突然発症する。そのため、血栓を生じやすい不安定動脈硬化巣（プラーク）の早期診断が重要である。</p> <p>血清コレステロール値や C 反応性蛋白などは虚血性心疾患のリスクを予測する因子として確立されているが、血液検査値であるため必ずしもプラークの状態を反映しているとは限らない。</p> <p>近年、血管細胞の代謝状態が動脈硬化の病態に関連することが報告されており、当教室では、プラークでは解糖系代謝が亢進するなどを明らかにしてきた。しかし、不安定プラークを反映する代謝産物は明確ではない。</p> <p>本研究では、不安定プラークの指標になりうる代謝物の同定を目的とし、①動脈硬化動物モデル、②ヒト冠動脈の病理標本、③ヒト培養細胞を用いて検討した。</p>			
<p>【方法】</p> <p>① 通常食と 0.5%コレステロール食を負荷家兔の片側腸骨大腿骨動脈をバルーンカテーテルで傷害し動脈硬化病変を誘導した。内皮傷害3ヶ月後に動脈硬化血管と対側の健状血管、左心室心筋を採取し、それぞれを代謝解析、組織学的解析（HE /ビクトリアブルー染色）、免疫組織化学 [RAM11、α-smooth muscle actin (SMA)、α-cardiac actin]、定量的 PCR 解析を行った。</p> <p>② 剖検症例（非心臓死：6例、陳旧性および急性心筋梗塞：11例）の冠動脈血管（134血管標本）を用いた。これらを組織学的に早期、安定、不安定プラークの3つの群に分類し、免疫組織化学[α-SMA、CD68、Choline transporter like protein (CTL)1、Choline</p>			

kinase (ChoK α)]を用いて、分子の局在を評価し、陽性面積率の3群比較を行った。

- ③ ヒト末梢血単核球由来マクロファージを TNF (tumor necrosis factor) α 、interferon- γ 、interleukin (IL)-4、低酸素 (1%O₂)、酸化 LDL (low density lipoprotein)で刺激し細胞内コリン濃度を測定した。

また、ヒト由来マクロファージとヒト冠動脈平滑筋細胞の CTL1, TNF α , IL-6, matrix metalloproteinase (MMP)9 の発現におけるコリン濃度や CTL1 の影響を検討した。

【結果】

- ① コレステロール食負荷の傷害動脈では通常食と比して、マクロファージ浸潤に富み、TNF α 、MMP 9 の発現が亢進していた。メタボローム解析で多くの代謝産物が心筋で高値であったが、コリンやグアニンは心筋や非傷害血管と比して傷害血管で高値であった。特にコリンはマクロファージに富む血管で高値を呈し、動脈のコリン含有量はマクロファージの陽性面積率、TNF α と MMP9 の遺伝子発現と正相関を示した。よってマクロファージとコリンの関連に注目し、以下の実験を施行した。
- ② ヒト冠動脈早期病変は、平滑筋細胞が豊富であり、安定病変は、平滑筋やマクロファージ集簇像を様々な程度に認めた。不安定病変は、マクロファージを豊富に含む大きなプラークを認めた。CTL1 は、主に不安定プラーク内のマクロファージに発現し、CTL1 陽性面積率は、プラークの早期病変・安定病変よりも不安定病変で有意に高値であった。ChoK α は、冠動脈に存在する細胞に普遍的に発現し、病変タイプで陽性面積率に有意差を認めなかった。
- ③ 末梢血単核球由来マクロファージのコリン含有量は、TNF α 刺激下で有意に増加し、低酸素下で有意に減少した。IFN- γ 、IL-4、酸化 LDL 刺激によるコリン含有量に有意差を認めなかった。培地へのコリン添加1日後、マクロファージの TNF α 発現が増加したが、CTL1、IL-6、MMP9 発現に有意差を認めなかった。ヒト冠動脈平滑筋細胞の TNF α 発現は増加したが、IL-6 発現は低下した。また、マクロファージへのコリン添加3日後 CTL1 発現が亢進した。CTL1 の siRNA によって CTL1 と共に TNF α や MMP9 も発現が低下した。ヒト冠動脈平滑筋細胞の CTL1 発現は時間経過によって低下し、それに伴って MMP9 発現も低下した。TNF α 、IL-6 発現には有意差を認めなかった。

【結論】

モデル動物からマクロファージに富むプラークの代謝指標としてコリンが同定された。ヒト冠動脈不安定プラーク内マクロファージの CTL1 発現亢進、モデル動物や培養マクロファージの細胞内コリン濃度や CTL1 と炎症性因子や細胞外基質分解酵素の関連から CTL1 は冠動脈不安定プラークの指標となる可能性が示唆された。

備考 論文要旨は、和文にあつては2,000字程度、英文にあつては1,200語程度