

## 学 位 論 文 要 旨

|  |     |     |       |
|--|-----|-----|-------|
| 博士課程<br>④・乙  | 第 号 | 氏 名 | 小山 彰平 |
| <p>[論文題名]</p> <p>Intracellular glutamine level determines vascular smooth muscle cell-derived thrombogenicity<br/>(細胞内グルタミン濃度は血管平滑筋細胞の血栓性を規定する)</p> <p>Atherosclerosis, 328, 62-73, 2021, DOI 10.1016 /j.atherosclerosis.2021.05.012</p> <p>[要 旨]</p> <p><b>【目的】</b></p> <p>心疾患は日本人の死因の第2位を占め、その中でも虚血性心疾患により年間およそ7万人が亡くなっている。その基盤となる病態が冠動脈の動脈硬化で、血栓形成や狭窄などにより急性心筋梗塞や狭心症を発症する。それら虚血性心疾患に対して行われる経皮的冠動脈形成術において、現在最も使用されているステントの一つであるエベロリムス溶出ステント(EES)はステント血栓症の発生率が低いことが報告されているが、その機序は明確ではない。エベロリムスにより阻害されるmTOR(mammalian target of rapamycin)は、グルコースやアミノ酸などの栄養源を感知し、細胞の増殖や代謝を調節する因子の一つである。しかしながら、EESによる血管壁細胞の代謝変化と細胞機能の関連は明らかになっていない。</p> <p>本研究では、エベロリムスによる血管壁細胞の代謝や血栓性への影響、並びにその関連性を明らかにすることを目的とした。</p> <p><b>【方法】</b></p> <p>① 家兎動物モデルを用いたエベロリムス溶出性ステント留置血管の組織学的解析および包括的代謝解析。</p> <p>日本白色家兎の両側腸骨動脈に対しバルーン傷害による内膜剥離を行い、平滑筋細胞に富む新生内膜を有する病変を作成した。4週間後、両側の腸骨動脈病変に対してそれぞれEESと対照のベアメタルステント(BMS)を留置した。ステント留置から4週間後に血管を採取し、ステント留置動脈の組織学的分析および包括的代謝解析を行った。</p> <p>② 培養ヒト冠動脈平滑筋細胞を用いた代謝および血栓性に対するエベロリムスの効果の検討。</p> |     |     |       |

培養ヒト冠動脈平滑筋細胞に、エベロリムスを投与し、細胞周期解析、細胞内グルタミン・グルタミン酸濃度の測定および凝固活性に対する効果を評価した。

#### 【結果】

① 家兎腸骨動脈ステント留置モデルを用いた組織学的検討において、EES を留置した血管では、BMS を留置した血管と比較して、新生内膜形成および平滑筋細胞の増殖が抑制されていた。免疫組織化学を用いた解析により EES 留置血管では BMS 留置血管と比較して、血液凝固の開始因子である組織因子の発現が有意に低下していた。包括的代謝解析において、EES を留置した血管と BMS を留置した血管では、代謝特性が異なっており、EES を留置した血管では、BMS を留置した血管と比較し、特にアミノ酸代謝産物が増加していた。その中で代謝変動が大きく生体内に最も多く存在するグルタミンに注目し②の実験を施行した。

② 培養ヒト冠動脈平滑筋細胞を用いて、レドックス色素を用いた細胞周期解析を行い、既知のエベロリムスによる細胞増殖抑制効果を確認した。次に、細胞内グルタミン濃度および血栓性への影響について検討し、エベロリムス投与により、細胞内グルタミン濃度は増加、組織因子発現は抑制され、培養細胞による血漿凝固活性が低下した。これらの結果は、上述の *in vivo* 実験の結果と一貫していた。培養ヒト冠動脈平滑筋細胞にグルタミンを投与したところ、エベロリムス投与時と同様に、細胞内グルタミン濃度は増加、組織因子発現は抑制され、培養細胞による血漿凝固活性が低下した。一方、グルタミン投与により mTOR 経路活性化の指標である S6 リボソームタンパクのリン酸化は増加し、平滑筋細胞数は増加した。なお、ROTEM®(rotational thromboelastometry)を用いて血液凝固線溶動態を解析したが、グルタミンは全血凝固には影響しなかった。

#### 【結論】

以上の結果から、細胞内グルタミン濃度は、mTOR 経路の活性に関わらず、血管平滑筋細胞に関連する血栓性を規定すると考えられた。エベロリムスによるステント血栓症の低下に、血管内膜平滑筋細胞における細胞内グルタミン濃度増加に起因する血液凝固活性低下の関与が示唆された。虚血性心疾患では、血栓予防に抗血栓薬が投与されるため、出血と血栓症のリスクのバランスが課題となっている。本研究の発展により血管壁の代謝を標的とした局所の血栓形成の制御という出血リスクを上げない治療法の開発につながる可能性がある。

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