

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	鎌田 諒
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
EPA Prevents the Development of Abdominal Aortic Aneurysms through Gpr-120/Ffar-4 (EPA は Gpr-120/Ffar-4 を介して腹部大動脈瘤の進展を抑制する)			
論文審査担当者			
主査	教授	木原 康樹	印
審査委員	教授	東 幸仁	
審査委員	准教授	山本 秀也	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>腹部大動脈瘤は動脈硬化などの慢性炎症により動脈径が拡大する病態で，大動脈瘤の破裂は致死的である。現在，大動脈瘤の破裂を防ぐために，ステントグラフト治療などの外科的な治療が行われているが，薬物治療による内科的治療法は確立されていない。腹部大動脈瘤破裂を防ぐ内科的治療法の確立のためには，腹部大動脈瘤発症のメカニズム解明が必須である。大動脈は内膜，中膜，外膜の三層から形成され，中膜において血管平滑筋と弾性線維が規則正しく配列することによって血管の弾力性と伸縮性が付与されるが，現在のところ，弾性線維の主成分であるエラスチンが，matrix metallo- proteinase (MMP) によって過剰に分解されて弾性線維の崩壊に至ることが，腹部大動脈瘤の発症の要因の一つと考えられているが，それに至る分子機序は不明な点が多い。</p> <p>所属研究室では，血管と骨組織形成及びその維持機構に共通性が指摘されていることから，破骨細胞分化抑制因子である osteoprotegerin (OPG) に着目し，腹部大動脈瘤における OPG の関与について研究を進めている。これまでに，塩化カルシウムを直接塗布することで腹部大動脈瘤モデルを作成する系を OPG 遺伝子欠損 (KO) マウスに適用し，術後1週間では，正常マウス (WT) 及び OPG-KO マウス共に動脈径の拡大が観察され，両者に有為な差異は認められなかったが，術後6週で動脈径が OPG-KO マウスでさらに拡大したことから，OPG は腹部大動脈瘤の拡大・進展を抑制することが示唆された。OPG が decoy 受容体として結合する TNF-<math>\alpha</math> の関連因子である TNF-related apoptosis inducing ligand</p>			

(TRAIL)の発現を免疫組織学的手法で調べたところ、*OPG*-KO マウスの腹部大動脈瘤患部中膜の平滑筋細胞に TRAIL の発現を多く認めた。さらに、マウス初代培養血管平滑筋細胞において、TRAIL が MMP-9 や MMP-9 阻害因子である tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) の発現を上昇させること、さらにそのシグナル経路の JNK (c-Jun N-terminal kinase)や NF- $\kappa$ B(nuclear factor-kappa B)のリン酸化が亢進することや、JNK や NF- $\kappa$ B 経路の特異的な阻害剤を添加することで MMP-9 や TIMP-1 の発現上昇が抑制されることから、TRAIL が主に JNK 経路を介して MMP-9 の発現を、NF- $\kappa$ B を介して TIMP-1 の発現を誘導することが示された。この結果から、TRAIL が腹部大動脈瘤形成に関与し、OPG の TRAIL に対する結合抑制によって腹部大動脈瘤形成・進展が抑制される可能性が示唆された。

本研究では、塩化カルシウムを用いた腹部大動脈瘤モデルマウスを利用して、抗炎症効果のある既存薬による腹部大動脈瘤の治療効果を検討した結果、 $\omega$ -3 系脂肪酸の eicosapentaenoic acid (EPA) に腹部大動脈瘤の発症・進展に対する抑制効果を見出し、その抑制の分子機構について検討した。

EPA を施術前 2 週間より食餌により投与し、施術後 6 週間の大動脈径並びに組織変化を比較した結果、*OPG*-KO マウスにおいて顕著であった動脈径の拡大、血管中膜の肥厚、さらに中膜組織の弾性線維の崩壊が、EPA によって WT と同程度まで抑制されることが明らかとなった。そこで、近年、脂肪細胞やマクロファージにおける EPA の抗炎症効果が、EPA の特異的受容体である G タンパク共役型受容体である GPR120 を介した効果であることが報告されたため、EPA による腹部大動脈瘤拡大の抑制効果においても同様のメカニズムが関与している可能性を考えてさらなる検討を行った。

まず、血管平滑筋細胞において GPR120 が発現することが、蛍光免疫染色法および RT-PCR 法によって確認された。次に、初代培養血管平滑筋細胞において TRAIL によって TAK-1(TGF- $\beta$ -activated kinase 1)のリン酸化を促進されること、EPA あるいは GPR120 のアゴニストである GW9508 の投与により TRAIL 刺激による TAK1 および JNK のリン酸化が抑制されること、MMP-9 の発現上昇が抑制されることが明らかとなった。さらに、siRNA (small interfering RNA)によって GPR120 をノックダウンした場合、EPA による TAK-1 および JNK のリン酸化抑制効果や MMP-9 の発現抑制が認められなくなったことから、EPA の抑制効果が GPR120 を介した作用であることが示唆された。以上のことから、EPA の食餌による腹部大動脈瘤の発症・進展に対する抑制効果は、EPA の特異的受容体である GPR120 を介して、OPG 欠損によって増加した TRAIL によって活性化された TAK1-JNK シグナル系が抑制され、TAK1-JNK シグナルの活性化によって発現上昇が見られる MMP-9 の発現が減少し、その結果として弾性線維の崩壊を含む腹部大動脈瘤の増悪が抑制されたとした分子機構を示した。

以上の結果から、本論文は動脈瘤発症・進展とその抑制に関する分子機構の理解に資するところ大である。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。