

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 1950 号

Defective autophagy in vascular smooth muscle cells enhances plaque instability

(血管平滑筋のオートファジー不全はプラーク不安定性に関連している)

増山 敦 (ますやま あつし)

博士 (医学)

論文内容の要旨

オートファジーは、飢餓に対するアミノ酸供給などのために、タンパク質などを分解する機構である。近年、このオートファジーの機能低下が、癌や神経変性疾患などに加えて、動脈硬化性疾患とも関連する可能性があることが報告されている。動脈硬化の過程においてプラークの破綻は心筋梗塞などの発症に関与していることから、そのメカニズムを解明することは重要な課題である。この点に関して Chen YC らは、apoE 欠損マウスの頸動脈に二重結紮手術を施行しヒトのプラーク破綻の際に認められる病理所見に類似した病変を示す新しいプラーク破綻モデルを作製した。本研究では、この破綻モデルを使用し、平滑筋細胞のオートファジーのプラーク不安定性に対する影響を検討した。Atg7f/f マウス (ATG7: オートファゴソームの形成に必須な遺伝子) に SM22 α -Cre^{tg} マウスを交配し、血管平滑筋特異的 Atg7 欠損マウスを作製した。さらに、血管平滑筋特異的 Atg7 欠損マウスに apoE 欠損マウスを交配し、平滑筋特異的 ATG7 欠損・apoE 欠損マウス (K0) とコントロール apoE 欠損マウスを作製した。今回の実験では、これらのマウスを用いて実験を行なった。10 週令のマウスに麻酔後、頸部を切開し右総頸動脈を露出し、直径 150 μ m の針金を総頸動脈に沿わせた。針金と血管をまとめて 6-0 ナイロン縫合糸で、分岐部の手前とそこから遠位部の 2 カ所を結紮した。針金を引き取り、縫合糸のみを残すことにより、血管狭窄モデルの作製が終了した。術後、5 週間、高脂肪食で飼育し、右頸動脈を摘出した。組織検体に関して H.E 染色、p62 染色、新鮮な出血を確認するために鉄染色であるベルリン青染色などを行った。術後 5 週の右総頸動脈では、コントロールマウスでもアテローム性動脈硬化の進展に伴い、オートファジーの機能低下のマーカーである p62 の発現が増加していた。一方で、コントロールマウスよりアテローム性動脈硬化が進展していた K0 マウスでは、p62 の発現はより増加していた。また、管腔内狭窄率も K0 マウスの方が増加していた。(管腔内狭窄率 コントロールマウス 43.3 \pm 8.08%, K0 マウス 89.2 \pm 2.30%, p=0.0003) さらに、K0 マウスにのみ管腔内血栓を認め、アテロームの存在の有無を問わない場合、血栓の形成は K0 マウスのみで確認された(血栓の有無 コントロールマウス 0 個, K0 マウス 5 個, p=0.0407)。ベルリン青染色陽性であった数は、K0 マウスで有意に多かった(プラーク内出血の有無 コントロールマウス n=3, K0 マウス n=12, p=0.0018)。この病変は、プラーク内出血によるものと考えられた。本研究の結果、血管平滑筋細胞のオートファジーの機能低下はプラークの不安定性に関与していることが明らかになった。