

大動脈瘤および大動脈中膜石灰化病変における 細胞外基質代謝の役割

宇都健太¹⁾, 傳田侑也¹⁾, 福田安希代¹⁾, 村田伸弘²⁾

A role of extracellular matrix metabolism in the pathogenesis of aneurysm and arterial medial calcification

Kenta UTO¹⁾, Yuya DENDA¹⁾, Akiyo FUKUDA¹⁾, Nobuhiro MURATA²⁾

要旨

本研究は、動物モデルを用いて、動脈中膜変性病変である大動脈瘤・大動脈解離および中膜石灰化でのI型collagen代謝を解析する。病変発症の新規動物モデルの作製、さらに大動脈病変の定量評価の改変を行い、ヒトに応用可能な血管病変評価法の確立を目指す。現在、動物モデル作製条件の設定を進めている段階である。

1. はじめに

本研究は、動脈中膜変性病変（大動脈瘤・中膜石灰化）における、細胞外基質（ECM）代謝、特にI型collagen代謝の解明を目的とする。大動脈瘤や中膜石灰化では中膜の断裂や変性がみられ、病変形成機序として血管平滑筋（VSMC）およびECM代謝が大きな役割を持つ。一方、血管の主要ECMはI型collagenであるため、病変の解明にはcollagen代謝の解析が必要不可欠である。本研究の解析過程では、動物での新規大動脈瘤・大動脈解離モデルの作製、さらに大動脈瘤形態や血管石灰化の定量評価の改変を行い、ヒトに応用できる血管病変の解析方法を確立することを副次的な目的とする。

2. 対象及び方法

対象の動物は以下の通りである。動脈瘤群: 離乳後のApoE KOマウスに、①β-aminopropionitrile monofumarate (BAPN) (0.3%-0.4%飲水中) 24週投与。②高血糖餌 + angiotensin II投与。血管石灰化群: 8週齢のSprague-Dawleyラットに対し、③War-

farin群 (warfarin 3mg/g食餌・vitamin K1 1.5mg/g食餌:2~4週間投与)、④Vitamin C群 (warfarin 3mg/g食餌・vitamin K1 1.5mg/g食餌:2~4週間投与 + vitamin C腹腔内投与)。上記の群に対し、alizarin red染色や組織透明化試薬を用いて、石灰化領域を明瞭に可視化、定量評価を行う。また剖出血管のμCT撮像、走査電顕および透過電顕を用いて、血管のcollagen構造の変化、血管内でのVSMC、リンパ球、macrophageなどの分布や形状を観察する。生化学的評価としては、血清生化学的指標、NTX, CTX, PINP, C1NP, intact PTH, osteocalcin, sIL-2R, CRPなどのECM代謝、Ca代謝、炎症反応に関する指標を測定する。採取した大動脈からタンパクおよびmRNAを抽出し、LOX, cbfa-1, ALP, MMP1, MMP2, MMP9, MMP13, RANKL, IL-2, IL-6, TNFαなどのECM代謝関連のRNA array解析を施行する。また、培養ラットA7r5細胞（ラット大動脈平滑筋由来細胞:RVSMC）を用いて、種々生理活性物質の作用について石灰化培地（3%リン負荷培地など）を使用して解析を行う。また、siRNAあるいはsiRNA

1) 日本大学医学部病態病理学系人体病理学分野

2) 日本大学医学部内科学系循環器内科学分野

責任者連絡先: 宇都健太, uto.kenta@nihon-u.ac.jp

発現 plasmid DNA の導入により, *MMP2*, *MMP9*, *TGF β 1*, *TGFBR2*, *AT1R*, *AT2R*, *FBN1*, *COL3A1*, *LOX* など, 血管病変に関与する遺伝子発現を調節し, RVSMC の形質転換を惹起して, ECM 関連タンパクや転写因子動態を解析する。光顕, 蛍光顕微鏡および透過電顕を用いて観察する。

3. 結果

現状では③の Warfarin 投与ラットによる石灰化条件¹は確立し, ④の Vitamin C 投与ラットは作製途中である。また, ①②の ApoEKO マウスでの大動脈瘤形成の病変形成条件を設定中である。これらの条件調整が困難で, 想定モデル作製に至らず, 実験の第一段階に時間を要している。

4. 考察

研究代表者は, Marfan 症候群の大動脈病変に関し, VSMC の形質転換・アポトーシス, 動脈瘤病変のレニン・アンジオテンシン系や脂肪酸代謝を解析し, 中膜石灰化に関して, エイコサペンタエン酸の石灰化抑制作用, 架橋酵素の lysyl oxidase (LOX) の骨での作用や, LOX と石灰化との関連について解析してきた。病変形成機序における ECM 代謝変動が重要な役割をもつが, 大動脈瘤, 大動脈解離, 中膜石灰化など, ヒトでの中膜変性病変の形成機序は不明な点が多い。適切な動物モデルが確立されていないことが, ヒトの病変機序の解明を困難にしているため, 本研究ではこれらの血管疾患モデル作製に重点を置く。

謝辞

本研究は日本大学医学部助成金 創立50周年記念研究奨励金の支援を受けて遂行中です。ここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) Uto K, Yoshizawa S et al. Inhibition of extracellular matrix integrity attenuates the early phase of aortic medial calcification in a rodent model. *Atherosclerosis* 319:10-20, 2021.