



Title	Lipoprotein (a) Enhances the Expression of Intercellular Adhesion Molecule-1 in Cultured Human Umbilical Vein Endothelial Cells
Author(s)	高見, 茂樹
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41163
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	高 見 茂 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 14052 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 10 年 5 月 29 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Lipoprotein (a) Enhances the Expression of Intercellular Adhesion Molecule-1 in Cultured Human Umbilical Vein Endothelial Cells (ヒト臍帯静脈内皮細胞における Intercellular Adhesion Molecule-1 の発現におよぼす Lipoprotein(a) の影響)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松澤 佑次 (副査) 教 授 萩原 俊男 教 授 堀 正二

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

Lp(a)は線溶系に影響を及ぼしうる特異なリポ蛋白として注目を集め、多くの疫学調査から粥状動脈硬化症の患者で高値を示すことが明らかとなっている。我々は炎症機転に血栓形成が加わって発症する Buerger 病の症例で血清 Lp(a)値が著明な高値を示すことを報告し、Lp(a)が粥状動脈硬化とは異なる機序で血管病変発症に関与する可能性を示した。他方、接着分子が動脈硬化性だけでなく炎症性血管病変の発症機序に深く関わっていることが示唆されている。我々は血管病変の発生、進展における Lp(a)の関わりをみる上で、血管内皮細胞における接着分子発現に及ぼす Lp(a)の影響およびその作用機序を検討した。

[方法]

Lp(a)は Fless の方法により Lysine-Sepharose column を用いて精製し、dithiothreitol により Lp(a)からその特異的アポ蛋白である apo(a)を取り除いた粒子を Lp(a-)とした。LDL は超遠心法により精製した。細胞はヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用い、接着分子の発現量は cell-ELISA 法、TGF- β は ELISA 法により測定した。

[成績]

HUVEC における ICAM-1, VCAM-1, E-selectin 発現に及ぼす Lp(a)の影響

HUVEC における ICAM-1 蛋白発現量に及ぼす Lp(a)の影響を刺激後48時間に測定した。ICAM-1 発現量は Lp(a)により濃度依存性に増加し、40 mg cholesterol/dl で基礎発現量の1.8倍となった。40 mg cholesterol/dl の Lp(a)により刺激した場合の time course では、ICAM-1 発現量は Lp(a)刺激後 4 時間で有意な増加を認め、72から96時間では plateau となった。LDL には ICAM-1 発現量に対する有意な影響は認めなかった。また、Northern Blotting により、Lp(a)刺激による HUVEC の ICAM-1 mRNA 発現量の増加を確認した。一方、Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1), E-selectin 蛋白発現量は Lp(a)により有意な影響は認めなかった。

HUVEC における ICAM-1 発現に及ぼす LDL, Lp(a-), apo(a)の影響

Lp(a)分子のいかなる部分が ICAM-1 蛋白発現量增加に寄与しているかを検討するために、同じ cholesterol 濃度の

LDL, Lp(a) 及び Lp(a-) の影響を比較した。Lp(a) とは対照的に, Lp(a-) や LDL には ICAM-1 発現量増加作用は認めず, apo(a) が ICAM-1 発現量増加に寄与しているものと考えられた。さらに, recombinant apo(a) を用いて, apo(a) 単独刺激でも ICAM-1 発現量が増加することが確認された。

インキュベーション後の HUVEC 培養液中の TGF- β 量の比較

Lp(a) は培養ヒト血管平滑筋細胞の増殖を促し, その効果は Lp(a) が plasminogen の活性化を阻害し, その結果血管平滑筋細胞増殖の inhibitor である TGF- β の plasmin による活性化が阻害される可能性が Grainger らにより報告されている。我々は Lp(a) による ICAM-1 の upregulation は active TGF- β の減少に起因するとの仮説を検討するため, HUVEC インキュベーション後に対照および LDL, Lp(a) 各含有培養液中の active 及び total TGF- β を測定した。培養液中の total TGF- β は三者間で有意差を認めなかったが, active TGF- β 濃度は対照 4.2 ± 1.8 ng/ml, LDL 4.0 ± 2.6 ng/ml に対し, Lp(a) 0.1 ng/ml 未満と, 有意にその活性化が阻害されていた。

Lp(a) による ICAM-1 発現量増加に対する TGF- β 中和抗体及び active TGF- β の影響

TGF- β 中和抗体を培養液中に添加し, Lp(a) による ICAM-1 発現量増加に対する影響をみた。Lp(a) 非存在下においては TGF- β 中和抗体添加により ICAM-1 発現量は濃度依存性に著明な増加を示したが, Lp(a) 存在下においては非存在下と比較し小幅の増加にとどまった。次に, Lp(a) による ICAM-1 発現量増加に対する active TGF- β の影響をみた。Lp(a) 無添加培養液に 5 及び 10 ng/ml の active TGF- β を加えても ICAM-1 発現量に影響はなかったが, Lp(a) 添加群においては active TGF- β 10 ng/ml を加えることにより, active TGF- β 無添加のものに対し有意に減少した。

[総括]

Lp(a) が血管内皮細胞における ICAM-1 発現量を増加させることにより血管病変の発生, 進展に関与することが示唆された。また ICAM-1 発現量増加の機序として, Lp(a) が latent TGF- β の活性化を抑制し, active TGF- β を減少させることが関与するものと推測された。

論文審査の結果の要旨

Lipoprotein(a) [Lp(a)] は多数の疫学的検討から動脈硬化性疾患の重要な危険因子として認められてきたが, どのように動脈硬化に関与しているかについてはこれまで明らかではなかった。本研究は Lp(a) と動脈硬化の関わりをみると, ヒト臍帯静脈内皮細胞 [HUVEC] における Intercellular Adhesion Molecule-1 [ICAM-1], Vascular Cell Adhesion Molecule-1 [VCAM-1], E-selectin などの接着分子発現に及ぼす Lp(a) の影響を検討したものである。本研究により, (1) Lp(a) が濃度依存的, 時間依存的に HUVEC の ICAM1 発現量を増加させる, (2) Lp(a) は VCAM-1, E-selectin 発現量には影響しない, (3) Lp(a) の ICAM-1 発現量増加作用はその特異的アポ蛋白である apo(a) に起因する, (4) Lp(a) の ICAM-1 発現量増加作用機序として, plasminogen の活性化阻害に伴う plasmin 産生抑制を介する TGF- β 活性化抑制が関与することなどが明らかとなった。特に Lp(a) が HUVEC において ICAM-1 発現量を増加させるとの知見は, 動脈硬化の最初の段階における血管内皮下への leukocyte 特に monocyte の侵入を Lp(a) が促進させることを示唆し, Lp(a) と動脈硬化の関わりを考える上で重要なものと考えられる。さらに, Lp(a) の ICAM-1 発現量増加について, その作用機序にまで検討を広げ, TGF- β の活性化抑制が関与することをも併せて解明している。以上より, 本研究は Lp(a) の動脈硬化発症メカニズムについて初めて接着分子の発現促進を介した経路を明らかにしたものとして重要なものであり, かつ全く新しい知見を報告しており, 学位の授与に値するものと考えられる。