



Title	経皮的血管拡張術後再狭窄におけるLOX-1の意義および摂食が血中LOX-1リガンド量へ及ぼす影響に関する研究
Author(s)	日永田, 純一
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43363
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について〈/a〉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	ひながた じゅん いち 日永田 純 一
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 16965 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学位論文名	経皮的血管拡張術後再狭窄における LOX-1 の意義および摂食が血中 LOX-1 リガンド量へ及ぼす影響に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 森崎 隆幸 (副査) 教授 山元 弘 教授 東 純一 教授 土井 健史

論文内容の要旨

血管内皮細胞は NO をはじめとする血管作動物質を産生して血管トーンスを調節することや血管透過性の調節および抗血栓作用などの役割を担っており、その機能低下は動脈硬化症など血管病変の進行に影響をあたえることがわかってきた。血管内皮細胞の機能低下をもたらすものとして酸化 LDL (Oxidized low density lipoprotein: OxLDL) が知られており、その作用点として考えられているのが LOX-1 (lectin-like oxidized LDL receptor-1) である。LOX-1 は TGF- β_1 (Tissue growth factor- β_1) や酸化ストレスおよび酸化 LDL などの刺激によって発現が誘導されてくることが示されていることから、状況の変化によりその発現はダイナミックに調節されるものと考えられる。また培養内皮細胞を用いた実験によって LOX-1 はリガンドである酸化 LDL を認識することにより内皮細胞内の酸化ストレスの亢進および NO 産生の低下を引き起こすことが明らかにされている。しかし実際に生体内で、特にヒトにおいて実際に LOX-1 が内皮機能の低下に関わっているのかについては十分な立証はできていない。また LOX-1 のリガンドとなる酸化 LDL とは LDL がどのような酸化変性をうけたものなのかについては明らかでなく、実際に生体内に LOX-1 のリガンドとなるようなものが存在するのかについても確証は無かった。

マクドナルド社のモーニングセットからなる高脂肪食を摂取することにより内皮機能が低下することとともに、その高脂肪食に加えビタミン C と E を摂取したときその低下が抑制されたことから、内皮機能低下に酸化的要素が関与すると考えられる報告がある。しかしそのような役割を果たす酸化的な要素が何であるのかについては不明であったが、これが LOX-1 リガンドであるとすると先に述べたような *in vitro* で明らかにされている内皮機能低下をもたらす LOX-1 の役割が生体内でも機能していると考えられる。そこで LOX-1 リガンドの血中レベル亢進が内皮機能低下に関連することを明らかにすべく、健康人ボランティアを対象にして先述の高脂肪食摂取により血中 LOX-1 リガンドレベルが亢進することとともに、ビタミン C と E を摂取した場合にその亢進が抑制されるのか検討した。LOX-1 リガンドレベルを測定する方法として、LOX-1 への結合活性により定量する方法である、LOX-1 のリガンド結合部位とヒト IgG の Fc 部分からなる融合タンパク質 (LOX-Fc) と抗アポ B 抗体を用いたサンドイッチ EIA 法によって行った。

10時間絶食後、高脂肪食摂取したとき血中 LOX-1 リガンドレベルは食前に比べ有意に亢進し、食後3時間では約2.5倍の増加が見られた。その経時変化は先述の内皮機能低下の変化と似た経過を示した。また食後3時間での LOX-1 リガンドレベルの食前レベルからの増加は、高脂肪食とともにビタミン C と E を摂取した場合において、高脂肪食

のみ摂取した場合の約6割に抑制され、ビタミンにより内皮機能低下が抑制される時 LOX-1リガンドレベルの亢進も抑制されているという結果を得た。LOX-1リガンド以外のパラメータとして、トリグリセリドも高脂肪食摂取により増加したがこれはビタミンの影響は受けなかった。また LDL レベルは高脂肪食摂取前後において有意な差は無かった。以上のことから、健常者の血中に実際に LOX-1リガンドが存在すること、高脂肪食の摂取により、LOX-1リガンドレベル亢進が内皮機能の低下と平行して起きていることが提示された。またビタミンを用いた実験により LOX-1リガンドのレベル亢進は酸化機序によるものであることが示唆されたが、これは血中の LDL そのものの量よりも、LDL が酸化変性を受けやすくなっている状態およびそれが LOX-1のリガンドとなってしまうことが血管内皮機能障害をもたらす、動脈硬化病変の形成に働く結果につながってしまうことを示唆する。

動脈硬化病変により血管が狭窄したときの治療法として、経皮的冠動脈形成術 (PTCA) が挙げられる。PTCA の問題点として施術後の血管再狭窄が挙げられるが、これはバルーンにより血管内膜が傷害を受け、内皮細胞がはがれたあとに平滑筋の遊走および増殖がおこってくるにより新生内膜が形成されることが狭窄の要因と考えられている。この傷害血管では TGF- β などの増殖因子やサイトカインならびに酸化ストレスの亢進が見られることが示されており、LOX-1の発現もそれらにより誘導される可能性が考えられる。LOX-1は内皮細胞だけでなく平滑筋細胞にも発現することから、血管拡張術後の傷害血管の再狭窄に関わる可能性が考えられた。そこでラット頸動脈バルーン傷害モデルを用いて、施術を行なった血管において LOX-1の発現が亢進しているのか確かめるとともに、LOX-1の機能を阻害することを確認した抗 LOX-1抗体の投与により内膜肥厚の形成が阻害されるのかを検討した。

施術を行なった血管での LOX-1の発現を RT-PCR による mRNA 発現の解析とともに血管の切片の抗 LOX-1抗体による免疫組織染色を行なって解析したところ、両方の結果より施術24時間後に LOX-1の顕著な発現を認めた。その発現ははじめに平滑筋部位に見られ、施術2週間後には主に再生内皮で見られた。また施術を行なったラットに体重あたり10mg/kgの抗 LOX-1抗体を3日に1回の割合で静注し、2週間後に解析するとコントロールである正常マウス IgG を投与したものに比べて抗 LOX-1抗体を投与したものでは顕著な内膜肥厚形成の抑制が見られ、内膜面積/中膜面積の比で解析すると27.8%の抑制効果があった。この結果より血管拡張術後の血管に LOX-1の発現が亢進して、それが再狭窄を進行させる役割をすることが示唆された。すなわち傷害をうけることなどにより血管内のホメオスタシスのバランスが崩れた状況において、LOX-1は内皮細胞だけでなく平滑筋細胞にも発現して血管病変の進行に重要な影響を与えていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

動脈硬化性病変の発症進展機構は血管内皮機能変化に依存し、酸化 LDL の作用が関与することが明らかになってきたが、その作用機序の詳細は不明であった。

最近、酸化 LDL 受容体である LOX-1が単離同定され、血管内病変の発症進展に関わる多機能受容体として注目されている。

著者は、LOX-1の病態生理に果たす役割について、次の2つのアプローチにより検討を行った。まず、内皮機能の低下をもたらすことが報告されている高脂肪食摂取と LOX-1との関連を、高脂肪食摂取と抗酸化ビタミン摂取による酸化 LDL を LOX-1リガンド量として測定して検討した。次に、頸動脈バルーン傷害モデルにおける LOX-1発現を測定し、血管内皮傷害に基づく LOX-1発現増加と抗 LOX-1抗体投与による内膜肥厚抑制効果を検討した。その結果、以下の成果が得られた。

1) 健常者の高脂肪食摂取により血中 LOX-1リガンドの増加を認め、その増加は抗酸化ビタミン摂取により有意に阻害された。正常 LDL レベルでも LOX-1リガンドが生体内で生じたことから、LDL 上昇を伴わない血管疾患においても LOX-1が病態に関与する可能性が示唆された。

2) 頸動脈バルーン傷害モデルにおいて、傷害血管における内膜肥厚とともに LOX-1発現亢進を認め、同モデルにおいて抗 LOX-1抗体投与により内膜肥厚抑制が確認された。このことから、経皮的血管拡張術後の再狭窄に LOX-1が促進的に関与していることが示唆された。

以上の成果は動脈硬化の成因と病態進展の機構の理解に役立ち、新規薬剤開発にも資する有用情報を明らかにした
ものと考えられ、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものとする。