

課題番号46

## トリプトファン中間代謝産物の動脈硬化・血栓形成における役割

### [1] 組織

代表者：山下 篤

(宮崎大学医学部)

対応者：堀内 久徳

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

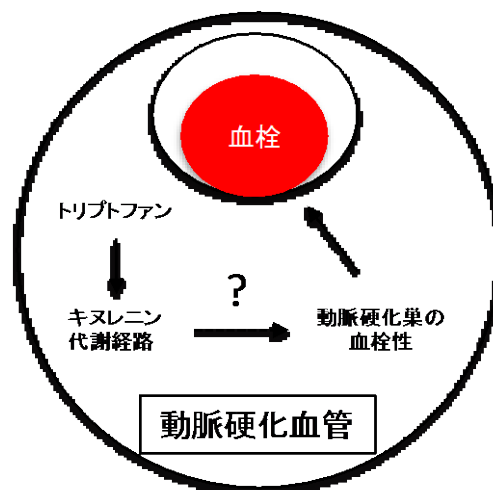
浅田 祐士郎 (宮崎大学医学部)

研究費：物品費40万円，旅費0円

### [2] 研究経過

心筋梗塞は冠動脈の動脈硬化巣（プラーク）の破綻にともなう血栓形成により発症する動脈血栓症で、再発予防に抗血小板薬の単剤もしくは2剤併用療法がなされている。しかしながら、強い抗血小板作用のため出血性合併症が問題となっており、出血性合併症の少ない予防薬の開発が期待されている。申請者らはプラークの血栓性に注目し、動脈血栓症の発症においてプラーク破綻や **tissue factor (TF)**（血液凝固の開始因子）の発現の程度が重要であることを明らかにしてきた。またプラークの血栓性とその代謝を研究する過程でトリプトファン代謝産物が活性化マクロファージで増加することや、家兔肺障害モデルを用いてトリプトファン代謝産物が抗炎症性マクロファージへの誘導を促し、出血の吸収や創傷治癒を促進させることを報告してきた。このことより、トリプトファン代謝制御によってプラークへの抗炎症作用が期待されるが、トリプトファン代謝とプラークの血栓性との関連は明らかではない。

本研究では、効果的で出血性合併症の少ない動脈血栓症予防薬の開発を目指して、動脈硬化血管におけるトリプトファン代謝やその代謝制御による抗血栓作用を明らかにすることを目的とする。



図トリプトファン代謝と動脈硬化・血栓形成の関連

以下、研究活動状況の概要を記す。

1. 虚血性心疾患症例 (n=35) と非虚血性心疾患 (胸痛症候群, n=27) の血清中トリプトファン、および中間代謝産物であるキヌレニン濃度を測定した。
2. 動脈硬化性疾患で摘出された大動脈標本を用いて、トリプトファン代謝律速酵素 (indoleamin 2,3-dioxygenase 1, IDO-1、トリプトファンをキヌレニンに代謝) の発現と代謝産物を検討した。
3. ヒト冠動脈アテレクトミー標本を用いて、不安定狭心症 (n=20)、安定狭心症 (n=20) における IDO-1 の発現や細胞分布を免疫組織化学で検討した。
4. 培養マクロファージ (THP-1) を **interferon (INF) - $\gamma$**  と **tumor necrosis factor (TNF) - $\alpha$**  で刺激しトリプトファン代謝、血栓性因子の関連を検討した。

なお本共同研究を行うにあたり、電話、スカイプ等により2月に一度、計6回の研究会議を継続した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、虚血性心疾患症例の血清キヌレニン濃度や血清トリプトファン濃度は非虚血性心疾患症例と比較して増加しており、トリプトファン代謝キヌレニン経路の変動が示唆された。

第2に、動脈硬化血管壁の遺伝子発現に関して、トリプトファン代謝キヌレニン経路の酵素であるIDO-1のmRNAは動脈硬化早期病変と比して進行病変で増加していた。トリプトファン濃度は2群間に差を認めなかったが、キヌレニン濃度は進行病変で増加していた。

第3に、冠動脈プラークにおいてIDO-1は主として一部のマクロファージに発現しており、TFの発現と共局在していた。マクロファージ、T細胞の浸潤やIDO-1の発現は不安定狭心症のプラークで増加していた。

第4に $INF-\gamma$ と $TNF-\alpha$ はTHP-1マクロファージのIDO-1発現を促し、培養上清のキヌレニン/トリプトファン比、TFのmRNAや蛋白発現、TF活性を増加させた。Epacadostat (IDO-1阻害剤)はキヌレニン/トリプトファン比を低下させ、 $INF-\gamma$ と $TNF-\alpha$ によるTF発現や活性を抑制した。一方、tissue factor pathway inhibitorの発現には影響を与えなかった。キヌレニン経路代謝産物誘導体のトラニラストもTF発現を抑制した。またIDO-1の阻害薬存在下でキヌレニン添加によりTFの発現が亢進され、リガンド依存性転写因子である芳香族炭化水素受容体の核内移行を促進させた。

進行性の動脈硬化血管ではトリプトファン代謝経路の一つであるキヌレニン経路が亢進、その律速酵素であるIDO-1は活性化マクロファージにおけるTFの発現を介してプラークの血栓性に関与していると考えられた。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、他プロジェクトへの展開や若手研究者の育成に寄与した。キヌレニン経路の阻害によりプラークの血栓性が抑制されることが示唆され、出血性合併症の少ない抗血栓薬の開発につながる事が予想される。

### [4] 成果資料

未発表。