

課題番号 60

急性心筋梗塞の発症に起因するプラークびらんの病態解明

[1] 組織

代表者：山下 篤

(宮崎大学医学部病理学講座)

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 (宮崎大学医学部病理学講座)

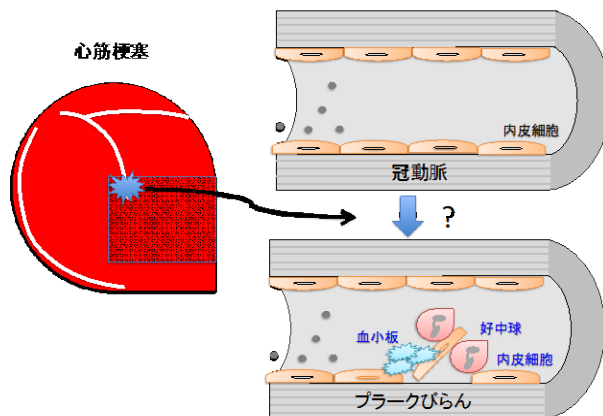
研究費：物件費 18 万 0 千円

[2] 研究経過

急性心筋梗塞の多くは冠動脈の血管内にコレステロールが蓄積している動脈硬化巣（プラーク）が血管内腔に破綻する、いわゆるプラーク破綻が引き金となり、それに伴う血栓形成により発症する。一方、およそ 30%は、プラーク部位の内皮細胞の剥離（プラークびらん、と呼ばれる）によって心筋梗塞が発症するとされている。プラーク破綻に起因するプラークはスタチンなどの優れた脂質改善薬により安定化させることが可能となってきたが、プラークびらんの病態は明確ではない(図)。プラークびらんの予防や治療法は未だ確立しておらず、その研究は近年ますますその重要性を増している。

そこで本研究では、未だ明らかではないプラークびらんの病態解明、特にびらん性プラークの特徴や血栓の成長機序の解明を目的として研究を行った。

これまでの研究で、動脈硬化血管において血小板凝集惹起分子であるポドプラニンが発現することを報告したが、その意義に関しては明確になっておらず、本研究でプラークびらんと病態との関連を検討した。



以下、研究活動状況の概要を記す。

1. ラット頸動脈びらん性傷害モデルによるポドプラニンの機能解析

ラット頸動脈結紮によるびらん性傷害モデルにおけるポドプラニンの作用を、血管壁細胞へのポドプラニン遺伝子導入法により検討した。ラット頸動脈 1.5cm を一過性に結紮し、ヒトポドプラニン遺伝子または対照の β ガラクトシダーゼ遺伝子(5×10^8 PFU)を含む生理食塩水(0.1mL)を注入、30 分後に中枢側のみ結紮を解除した。

2. 培養ヒト大動脈内皮細胞を用いて、ポドプラニン発現を誘導する因子を検討した。また血小板凝集計を用いて、ポドプラニン発現内皮細胞の血小板 ADP 凝集への作用を検討した。

3. 冠動脈プラークびらん部でのポドプラニン発現を免疫組織化学で検討した。

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 ヶ月に一度、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、ラット頸動脈にヒトポドプラニン遺伝子、対照群に β ガラクトシダーゼ遺伝子を導入した 1 日後、主に内皮細胞にヒトポドプラニンタンパク質の発現を認めた。4 日後、対照群の頸動脈に壁血栓形成を認めたが、ポドプラニン導入群では亜閉塞性もしくは閉塞性血栓が形成された。ポドプラニン遺伝子導

入血管に生じた血栓面積率 ($86.0 \pm 12.9\%$, $n=6$) は、対照血管の血栓面積率 ($14.4 \pm 3.8\%$, $n=6$, $p<0.05$) と比して有意に大きかった。蛍光二重染色でポドプラニン発現内皮細胞が血栓内に巻き込まれており、ポドプラニンがびらん性傷害やその後の血栓形成に促進的に作用することが示唆された。

第2に、健常内皮細胞はポドプラニンを発現しないため、これまでにポドプラニン発現を誘導する因子として報告されている Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A, Interleukin-3, Interleukin-6, transforming growth factor- β の作用をヒト大動脈内皮細胞を用いて検討した。これらの中で VEGF-A のみがポドプラニンの遺伝子、タンパク発現を促した。

VEGF-A による内皮細胞の血小板凝集への作用を検討した。VEGF-A で刺激した内皮細胞は ADP による血小板凝集促進作用に一貫性を示さなかったため、VEGF-A の遺伝子導入によりポドプラニン発現が安定したヒト大動脈内皮細胞を用いた。その VEGF-A 導入内皮細胞は細胞数依存性にラット血小板の ADP 凝集を促進した。ポドプラニンとその受容体 clec-2 の結合を抑制するヒトポドプラニン抗体の添加によりその促進作用は抑制された。以上の結果より VEGF-A の高発現状態が内皮細胞にポドプラニン発現を誘導し、clec-2 を介して血小板凝集を促進することが示唆された。

第3に、内皮細胞でのポドプラニン発現がびらん性傷害やその後の血栓形成を促進することが示唆されたため、剖検症例の冠動脈標本で、プラークびらん部にポドプラニンが発現するかどうかを検討した。しかしながら、血栓形成部では内皮細胞が内腔側、血栓内に存在せず、内皮細胞におけるポドプラニン発現を確認することが困難であった。剖検標本のため、発症から病理解剖までの経過時間、治療による影響、死亡から病理解剖までの経過時間などが影響した可能性がある。

(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た。しかしながら研究成果は途上の段階であり、2020年度の継続申請をさせていただいている。また、本共同研究で明らかにしようとしている研究成果は、プラークびらんの予防や治療法の開発に結びつくと考えられ、今後の発展が期待される。

[4] 成果資料

(1) Furukoji E, Yamashita A, Nakamura K, Hirai T, Asada Y. Podoplanin expression on endothelial cells promotes superficial erosive injury and thrombus formation in rat carotid artery: Implications for plaque erosion. *Thromb Res.* 2019;183:76-79.