

主論文の要旨

**C1q/TNF-related protein 1 prevents neointimal
formation after arterial injury**

〔 C1q/TNF-related protein 1 は、血管傷害後の
新生内膜形成を予防する 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻
病態内科学講座 循環器内科学分野

(指導：室原 豊明 教授)

金村 則良

【緒言】

肥満は2型糖尿病、脂質異常症、高血圧などの生活習慣病に関与し、結果としてその最終像である動脈硬化や血管形成後の再狭窄の進行に関与することが知られていません。

近年、食が豊かになり運動する機会が減少することにより、世界的に肥満人口は増加しています。肥満によって内蔵脂肪の過剰蓄積が起こると、脂質異常症、糖尿病、高血圧などを高頻度に合併するメタボリック症候群を引き起こし、ひいては、心血管障害、脳血管障害、閉塞性動脈硬化症などの発症へとつながります。これら動脈硬化性疾患の発症には、内臓脂肪の蓄積に伴うアディポサイトカインの産生異常が関わっている事が明らかになってきています。

脂肪組織はエネルギーの貯蔵器官としてだけでなく、様々なアディポサイトカインを分泌する内分泌臓器としても機能しています。肥満状態では、肥満関連疾患を促進するアディポサイトカインが増加する一方、保護的に作用する、アディポネクチンをはじめとするアディポサイトカインが減少し、様々な臓器で肥満関連疾患につながると考えられています。

我々のグループでは、アディポネクチン以外にも疾患保護的に作用を有する Adipolin や CTRP9 などのアディポサイトカインの役割を報告してきました。今回、Adiponectin パラログである CTRP family の一つ、CTRP1 に着目しました。

CTRP1 は約 15 種類メンバーからなる CTRP family に属し、コラーゲン様ドメイン、C1q 様ドメインを有する adiponectin パラログで、脂肪組織に多く発現していることが報告されています。

臨床的には、CTRP1 はメタボリックシンドロームや肥満状態で上昇していることが知られており、また我々は、冠動脈疾患患者においても上昇していることを明らかとしました。一方、実験的には、CTRP1 の過剰発現は、肥満マウスにおいて糖代謝改善作用を示すことが報告されています。しかしながら、血管病に対する CTRP1 の役割は明らかではありません。

【対象及び方法】

今回、我々は、血管リモデリングにおける CTRP1 の効果とその機序について検討しました。具体的には、In vivo において、CTRP1 もしくはコントロールのアデノウイルスベクターを野生型マウスに投与し、左下肢動脈に steel wire を挿入することで、マウス血管傷害モデルを作成しました。また、in vitro では、培養血管平滑筋細胞に CTRP1 蛋白を添加することで、CTRP1 の分子機序を検討しました。

【結果及び考察】

アデノウイルス投与後 5 日目、CTRP1 投与群において CTRP1 濃度の上昇が確認されました。アデノウイルス投与後 3 日目に血管傷害術を施行し、その後 21 日目に HE 染色にて内膜中膜比を検討したところ、CTRP1 投与群において有意に新生内膜肥厚

の抑制を認めました。(figure1A) また、新生内膜における細胞増殖を評価するため、BrdU 染色にて行ったところ、術後 7 日目の新生内膜中の BrdU 陽性細胞は、CTRP1 投与群において有意に減少を認めました。(figure1B) このことから、CTRP1 の全身投与は、傷害血管において、新生内膜内の細胞増殖を有意に抑制し、その結果、新生内膜肥厚が抑制されたことが示唆されました。

次に傷害血管における内膜肥厚に重要な血管平滑筋細胞の増殖に対する CTRP1 の作用を検討しました。血管平滑筋細胞に対して、血管増殖因子である PDGF-BB 刺激に伴った血管平滑筋細胞増殖反応は、CTRP1 を添加しておくことで、有意に抑制されました。(figure2B) cAMP の産生増加は血管平滑筋細胞において増殖抑制作用を発揮することが報告されています。そこで、cAMP 産生に対する CTRP1 の影響について検討を行いました。CTRP1 を添加すると血管平滑筋細胞では、cAMP の産生が有意に認められました。(figure2A) 次に、アデニリルシクラーゼ阻害剤にて前処置を行ったところ、CTRP1 の PDGF-BB 刺激に伴った血管平滑筋細胞増殖抑制効果は解除されました。(figure2B) 以上から、CTRP1 の血管平滑筋細胞増殖抑制作用には、cAMP 産生が関与していることが示唆されました。

また、S1P2 レセプター拮抗薬にて前処置を行ったところ、CTRP1 による PDGF-BB 刺激に伴う血管平滑筋細胞増殖抑制効果は解除されました。(figure2C) S1P2 レセプター拮抗薬の前処置は、CTRP1 添加による cAMP 産生増加を、有意に抑制しました。(figure2D) 以上から、CTRP1 の血管平滑筋細胞増殖抑制作用には、S1P-cAMP 依存経路が関与していることが示唆されました。

ERK の活性化は、血管平滑筋細胞増殖に重要であることが知られています。血管平滑筋細胞における ERK 活性への CTRP1 の効果を検討しました。血管平滑筋細胞への PDGF-BB 添加は著明な ERK 活性化を認めました。CTRP1 の添加によりこの ERK の活性は抑制されました。(figure3A) また、アデニリルシクラーゼ阻害剤の前処置を行うと CTRP1 の PDGF-BB 刺激に伴う ERK 活性の抑制効果は解除されました。(figure3B) 以上から、CTRP1 は、cAMP 産生増加を促し、その結果、血管平滑筋細胞の ERK 活性を抑制し、細胞増殖を抑制するものと示唆されました。

最後に、CTRP1 遺伝子欠損マウスを用いて検討を行いました。CTRP1 遺伝子欠損マウスを用いて血管傷害モデルを作成したところ、対照マウスと比較して血管傷害後の新生内膜肥厚が有意に増加していました。(figure4A) また、CTRP1 遺伝子欠損マウスに、血管傷害モデル作成後、BRDU 染色を行うと、対照マウスと比較して BRDU 陽性細胞の著明な増加を認めました。(figure4B) これらの CTRP1 遺伝子欠損マウスを用いた検討の結果、内因性の CTRP1 は病的血管リモデリングに対して防御的に作用するものと考えられました。

【結語】

マウス血管傷害モデルにおいて、CTRP1 の全身投与は、新生内膜肥厚や新生内膜内の細胞増殖を有意に抑制しました。In vitro において、CTRP1 は、血管平滑筋細胞

の増殖能を抑制しました。CTR_{P1} の増殖抑制効果には、cAMP 依存性経路を介した ERK 活性抑制が関与していました。CTR_{P1} の欠損は、血管傷害後の新生内膜肥厚と血管平滑筋細胞増殖の増加をもたらしました。

CTR_{P1} は血管平滑筋細胞増殖抑制効果を有し、病的血管リモデリングを抑制し、血管病の進展において防御的な役割を果たすと示唆されました。CTR_{P1} は、血管病にて重要な役割を果たすアディポサイトカインである可能性が示唆されました。