

論文内容の要旨

論文提出者氏名 加藤 拓

論文題目

Bone marrow angiotensin AT2 receptor deficiency aggravates atherosclerosis development by eliminating macrophage liver X receptor-mediated anti-atherogenic actions

論文内容の要旨

アンジオテンシン II 1 型(AT1)受容体は、動脈硬化に促進的に作用することが知られており、骨髄 AT1 受容体においても macrophage-colony-stimulating factor (M-CSF)を介した単球分化増殖制御により動脈硬化形成を促進することが報告されている。一方、アンジオテンシン II 2 型(AT2)受容体は動脈硬化において AT1 受容体に拮抗的に働くことが報告されているが、骨髄 AT2 受容体の動脈硬化に対する作用やメカニズムは明らかでなかった。また、マクロファージは分化誘導、集積、炎症などを介し動脈硬化形成における中心的役割を果たしていることが知られている。本研究では、骨髄 AT2 受容体欠失が動脈硬化形成に与える影響、およびマクロファージ表現型に与える影響とそのメカニズムについて解析を行った。

動脈硬化モデルマウスであるアポリポタンパク質 E(apo-E)欠損マウスに対し、8 週齢時点で骨髄移植を行った。全身放射線照射を行った後、apoE 欠損マウスの骨髄細胞、または apoE/AT2 受容体両欠損マウスの骨髄細胞を移植し、骨髄 AT2 受容体存在(BM-Agtr2^{+/+})および骨髄 AT2 受容体欠失(BM-Agtr2^{-/-})、2 群の apoE 欠損マウスを作成した。動脈硬化形成を促進すべく移植 8 週後より高コレステロール食負荷を開始し、さらに 8 週後の 24 週齢時において、動脈硬化形成の評価を行った。全大動脈での動脈硬化形成をオイルレッド O 染色にて評価したところ、BM-Agtr2^{+/+}群では BM-Agtr2^{-/-}群に対し有意に動脈硬化形成が増悪していた。また、大動脈基部での MOMA2 陽性領域も BM-Agtr2^{+/+}群で有意に増大しており、粥腫へのマクロファージ集積増加を示すと考えられた。

次にマクロファージの分化誘導における AT2 受容体の関与を検討した。野生型および AT2 受容体欠損マウスの骨髄細胞を採取し、M-CSF を用いて骨髄由来マクロファージを培養した。LPS と IFN γ の共

投与による M1 マクロファージへの誘導、および IL-4 の投与による M2 マクロファージへの誘導を行ったが、M1/M2 マーカーの発現レベルは野生型と AT2 受容体欠損マウスで差を認めず、マクロファージ分化誘導に AT2 受容体の有無は関与していないものと考えられた。また、チオグリコレート誘導性マウス腹腔内マクロファージの炎症性サイトカイン発現においても野生型と AT2 受容体欠損マウスで差を認めなかった。そこで我々はリガンド依存性に発現する転写因子に注目し、マクロファージ核内転写因子であり動脈硬化進展・退縮両者に大きく関与する肝 X 受容体(LXR)発現を検討したところ、AT2 受容体欠損腹腔マクロファージでは LXR β の mRNA およびタンパク発現が減弱していた。LXR β は種々の細胞に発現し、抗炎症・抗細胞増殖作用が報告されている。野生型マクロファージでは LXR 作動薬(GW3965)の前投与は、LPS 刺激誘発性炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-6、IL-1 β)発現を減弱させるが、AT2 受容体欠損腹腔マクロファージでは LXR 作動薬の抗炎症作用が減弱していた。

さらに、LXR β に発現調整を受ける ATP-binding cassette transporter 1 (ABCA1)の発現について検討したところ、ABCA1 mRNA 発現は AT2 受容体欠損腹腔マクロファージで減弱していた。ABCA1 はマクロファージからのコレステロール引き抜き(Cholesterol efflux)に関与するが、蛍光標識コレステロールを用いて行った Cholesterol efflux assay において、AT2 受容体欠損腹腔マクロファージでの Cholesterol efflux は低下していた。また、同様に LXR β に発現調整を受け、ブレイクからの macrophage emigration に関与する CCR7 の発現についても、AT2 受容体欠損腹腔マクロファージで減弱していることが確認された。

本研究の結果により、AT2 受容体欠失はマクロファージ LXR β 発現低下を介して増悪効果形成を増悪させることが示された。一方で、AT2 受容体による LXR β 発現調整のメカニズムは明らかとなっておらず今後の検討課題である。また、経口 AT2 受容体直接刺激薬である Compound 21(C21)には血管保護・抗炎症作用が報告されており、本研究の結果も AT2 受容体刺激による新たな抗動脈硬化治療の可能性を支持するものと考ええる。