

論文内容の要旨

論文提出者氏名 岸田 聡

論文題目

Short-Term Treatment with an Angiotensin II Receptor Blocker Prevents Necrotic Core Formation by Inhibiting Oxidative Stress-Mediated Apoptosis in Macrophages.

論文内容の要旨

レニン-アンジオテンシン (RA) 系は動脈硬化のプラーク進展に関与し、アンジオテンシン II タイプ 1 レセプター (AT1R) 拮抗薬である ARB は脆弱性プラークの進展を抑制することが報告されている。また脆弱性プラークにおける壊死性コアの形成には、小胞体ストレスによるマクロファージのアポトーシスが影響することが報告されている。しかしながら RA 系と小胞体ストレスを介した脆弱性プラークの形成機序の関連性については明らかになっていない。我々は小胞体ストレスを介した脆弱性プラーク形成における RA 系の関与について検討した。

まず動脈硬化モデルマウスであるアポロタンパク E 欠損 (ApoE-KO) マウスに 8 週齢より高コレステロール食を与えると、16 週齢から 20 週齢にかけて腕頭動脈の動脈硬化プラーク内における壊死性コア形成が急激に進展することを確認した。次に 15 週齢から 19 週齢にかけて浸透圧ポンプを用いて生理食塩水、ヒドララジン、ARB をそれぞれ投与する 3 群に分けて検討したところ、ARB 投与群では他の 2 群と比べ腕頭動脈の動脈硬化プラーク面積と壊死性コアの割合が有意に減少していた。HDL コレステロール以外の脂質プロファイルは 3 群で同等であり、ヒドララジン投与群と ARB 投与群はコントロール群と比べ降圧効果は同等であったため、ARB による壊死性コアの進展抑制は降圧効果に依存しないことが示唆された。さらに動脈硬化進展過程である 17 週齢でのマウス腕頭動脈について検討したところ、プラーク内マクロファージ (MAC2 陽性細胞) とアポトーシス細胞 (TUNEL 陽性細胞) が ARB 投与群で減少しており、腕頭動脈から抽出した mRNA の real time PCR 解析においても MCP-1 および CD68 の mRNA 発現が ARB 投与群で低下していた。動脈硬化プラーク内におけるマクロファージのアポトーシスには、小胞体ストレスにより誘導される C/EBP 相同蛋白 (CHOP) が中心的な役割を果たしていることが報告されている。そのため 17 週齢の腕頭動脈における CHOP mRNA 発現レベルを検討した

ところ、ARB 投与群で著明に減少していた。AT1R の活性化は酸化ストレスを増加させ、また酸化ストレスが CHOP 発現を増加させると報告されているため、NADPH オキシダーゼのサブユニットである Nox2 と Nox4 の mRNA 発現レベルを検討したところ、いずれも ARB 投与群で有意に減少していた。ARB 投与は酸化ストレス抑制を介して小胞体ストレスによるアポトーシス抑制作用を発揮している可能性が示唆された。

続いてマクロファージの CHOP 発現やアポトーシスに対してアンジオテンシン II が及ぼす影響を *in vitro* で検討した。野生型マウスからチオグリコレート誘導性腹腔内マクロファージ (TGPM) を採取し、遊離コレステロール負荷による小胞体ストレスの誘導を行ったところ、CHOP mRNA の発現レベルは時間依存性に増加し負荷 8 時間後がピークであった。しかし、アンジオテンシン II、ARB、選択的 AT2R 阻害薬存在下での小胞体ストレス負荷による CHOP mRNA 発現レベルやアポトーシス細胞数には変化が見られず、小胞体ストレスによるマクロファージのアポトーシス発現にはアンジオテンシン II が直接作用する可能性は低いと考えられた。

そのため AT1R が直接作用するのではなく、酸化ストレス増大を介して間接的に CHOP mRNA 発現を増加させる可能性について検討した。アンジオテンシン II を腹腔内投与した野生型マウスから採取した TGPM では、NADPH オキシダーゼのサブユニットである Nox2、p22phox、p47phox の mRNA 発現レベルが非投与群と比べ上昇していた。すなわち、アンジオテンシン II が投与されたマウスの TGPM では非投与群より酸化ストレスが増大していることが推察された。また遊離コレステロール負荷による CHOP mRNA 発現の増幅率についても、アンジオテンシン II 投与群の TGPM では非投与群と比べて有意に亢進していた。このことからアンジオテンシン II はマクロファージにおける酸化ストレス増大を介して CHOP の発現を増幅していると考えられた。

結論として AT1R 刺激は酸化ストレスの増大を介して小胞体ストレスによるマクロファージのアポトーシスを誘導し、壊死性コアの形成を進展させることで脆弱性プラークの形成に深く関与していることが示唆された。本研究の結果は、小胞体ストレスを介する脆弱性プラークに対する新たな治療戦略の構築につながる可能性があると考えられる。