

Title	Genetic Ablation of MicroRNA-33 Attenuates Inflammation and Abdominal Aortic Aneurysm Formation via Several Anti-inflammatory Pathways(Abstract_要旨)
Author(s)	Nakao, Tetsushi
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2018-01-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k20801
Right	許諾条件により本文は2018-10-01に公開
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医学）	氏名	中尾 哲史
論文題目	Genetic Ablation of MicroRNA-33 Attenuates Inflammation and Abdominal Aortic Aneurysm Formation via Several Anti-inflammatory Pathways (microRNA-33 を遺伝的に欠失させると、複数の抗炎症メカニズムを介して炎症と腹部大動脈瘤形成が緩和される)		
(論文内容の要旨)			
<p>背景：大動脈瘤は無症状のまま径が拡大し、一旦破裂すると 8~9 割死亡するという重大な疾患である。大動脈瘤治療薬の標的として、血管組織を破壊して脆弱性を惹起するプロテアーゼやそのシグナル伝達に関わる分子と考えられていたが、これまで臨床試験で有効性を示せた薬剤はない。大動脈瘤に関与するプロテアーゼには非常に多種あり、特定の分子の阻害では不十分であったことがその理由であると考えられる。そこで、より上流である血管炎症の抑制が重要な可能性がある。</p> <p>microRNA(miR)-33 は様々な標的遺伝子を転写後調節により抑制し、脂質代謝や炎症を悪化させる。また、miR を制御する核酸医薬技術が臨床応用されつつあるため、今後の創薬の対象となりうる可能性がある。そこで、miR-33 を抑制すると大動脈瘤の形成を抑制できる、と仮説を立てて検証した。</p> <p>方法：まず、ヒト大動脈瘤壁における miR-33 の発現量を測定した。次に、マウス大動脈瘤モデルとして、①炎症の惹起を主体とする塩化カルシウム塗布モデル、②脂質プロファイルの悪化を伴う ApoE ノックアウトマウスに高コレステロール食とアンギオテンシン II を負荷するモデルを用い、miR-33 ノックアウト (KO) マウスにおける大動脈瘤形成について検討した。また、大動脈瘤に関与する主な細胞種としてマクロファージ(Mφ)および血管平滑筋細胞(VSMC)について、また、抗炎症効果を有し miR-33 との関連が濃厚な HDL-C について、それぞれ <i>in vitro</i> で miR-33 が炎症に与える影響とそのメカニズムを検討した。Mφ は腹腔内にチオグリコレートを投与して採取した。VSMC はマウス大動脈から酵素処理を用いて単離した。また、血清からポリエチレングリコールを用いて HDL-C を含む分画を回収した。最後に骨髄移植実験を行い、骨髄由来の細胞およびその他の細胞腫の miR-33 が大動脈瘤形成に与える影響を評価した。</p> <p>結果：ヒト大動脈壁では、周辺部より中心部で miR-33a-5p が上昇していた。<i>in vivo</i> においては、いずれのモデルにおいても、KO マウスでは野生型と比較して大動脈瘤が形成されにくかった。また、KO マウスの大動脈瘤壁では、炎症の誘導に重要な Mφ (CD68 陽性細胞) の数が減少し、Mφ 遊走を惹起する主なケモカインである MCP-1 の発現が低下していた。MMP9 は大動脈瘤壁では主に Mφ から分泌され、大動脈瘤進行に寄与する代表的なプロテアーゼであるが、KO マウスでは CD68・MMP9 二重陽性領域が減少していた。</p> <p><i>in vitro</i> においては、KO マウス由来の腹腔内 Mφ において gelatin zymography により評価した MMP9 の活性が低下し、qPCR で評価した M1 マーカー遺伝子の発現が低下、M2 マーカー遺伝子の発現が上昇していた。この差は JNK 阻害薬で消失したことから、JNK の活性低下によるものであることが示唆された。KO マウス由来 VSMC においては、MCP-1 の発現が低下しており、この差は p38 MAPK 阻害薬で消失したことから、p38 MAPK の活性低下によることが示唆された。また、KO マウス由来の HDL-C は、野生型由来に比べて、Mφ および VSMC において、それぞれ MMP9、MCP-1 の発現をより低下させた。</p>			

<p>最後に、骨髄移植実験では、ドナーおよびレシピエントのいずれで miR-33 が欠損しても、大動脈瘤の形成が抑制された。</p> <p>結論：miR-33 の抑制により、複数の抗炎症メカニズムを介して大動脈瘤が抑制された。miR-33 は、大動脈瘤の新規創薬標的として有用な可能性がある。</p>
(論文審査の結果の要旨)
<p>脂質代謝および動脈硬化の進展に重要な microRNA である miR-33 の大動脈瘤形成および破裂における役割を検討した。まず、病態への関与を調べる目的で、大動脈瘤患者の miR-33a-5p の発現量を測定したところ、周辺領域より中心領域で発現量が高かった。</p> <p>次に、miR-33 欠損 (KO) マウスを用いて検討したところ、Angiotensin II および塩化カルシウム負荷により誘発される大動脈瘤の形成および破裂が野生型に比較して抑制された。KO マウスの大動脈瘤壁中では、野生型よりマクロファージは浸潤が少なく matrix metalloproteinase 9(MMP9)、Monocyte Chemotactic Protein-1(MCP-1) の発現が野生型より少なかった。次に、骨髄移植実験を行い、骨髄由来細胞及び骨髄由来以外の細胞の、いずれで miR-33 が欠損しても大動脈瘤形成が抑制された。</p> <p>これらの原因を探る目的で細胞実験を行なったところ、miR-33KO マクロファージでは MMP9 の発現が減少していた。また、miR-33KO 血管平滑筋細胞の MCP-1 の発現が減少していた。</p> <p>これらの結果より、miR-33 が血管壁における炎症と大動脈瘤形成、破裂に関わっていることを示した。</p> <p>以上の研究は、血管炎症における microRNA-33 の役割の解明に貢献し、大動脈瘤の病態解明に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 12 月 11 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>