



TITLE:

Osteoprotegerin Prevents Intracranial Aneurysm Progression by Promoting Collagen Biosynthesis and Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Miyata, Takeshi

---

CITATION:

Miyata, Takeshi. Osteoprotegerin Prevents Intracranial Aneurysm Progression by Promoting Collagen Biosynthesis and Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation. 京都大学, 2021, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2021-05-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k23380>

RIGHT:

京都大学	博士 ( 医学)	氏名	宮田 武
論文題目	Osteoprotegerin Prevents Intracranial Aneurysm Progression by Promoting Collagen Biosynthesis and Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation (Osteoprotegerin は collagen 生合成と血管平滑筋の増殖を促す事で脳動脈瘤の増大を抑制する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景と目的】 脳動脈瘤の主な組織学的特徴は、細胞外基質の減少と中膜平滑筋細胞(VSMC)の脱落である。この退行変性には慢性炎症反応が関連し、NF-<math>\kappa</math>B (Nuclear factor-kappa B) 経路が中心的役割を担う事が明らかにされている。脳動脈瘤組織では collagen 生合成が低下している事も示されているが、collagen 増生と脳動脈瘤増大の抑制の機構に関しては未解明である。</p> <p>Osteoprotegerin (OPG) は TNF 受容体スーパーファミリーの一種で、多彩な生理活性を有する。OPG は VSMC 増殖を促し、TGF-<math>\beta</math>1 発現を亢進させ collagen の増生を促す。この点に着目し、慢性炎症性刺激で菲薄化した脳動脈瘤壁に対し、『OPG 投与が細胞外基質を増生させ、VSMC を増殖させる事で脳動脈瘤増大を抑制する』という仮説を立て、これを検証する事を本研究の目的とした。</p> <p>【方法】 7 週齢雄 Sprague-Dawley ラットに片側総頸動脈と腎動脈の結紮を行い、術後から 8% NaCl 及び 0.12% <math>\beta</math>-aminopropionitryl 混合特殊飼料を投与し、嗅動脈-前大脳動脈分岐部に実験的脳動脈瘤を誘導した。結紮術 1 週間後に、リコンビナント OPG または Vehicle control を充填した浸透圧ポンプと脳室カテーテルを皮下に埋め込み、持続髄腔内投与を 4 週間行った。ウィリス動脈輪を単離して脳動脈瘤のサイズと血管壁菲薄化率を評価した。さらに、単離したウィリス動脈輪を用い、リアルタイム定量 PCR (qPCR) 法や免疫蛍光染色 (IHC) 法で、各遺伝子発現や TGF-<math>\beta</math>1 経路の活性化を検討した。次に、野生型マウス大動脈由来 VSMC 培養細胞を用い、OPG の VSMC への増殖作用や、TGF-<math>\beta</math>1 や procollagen (type-I, type-II) 遺伝子などの発現に与える影響を、MTS アッセイと qPCR 法で検討した。</p> <p>【結果】 OPG 投与群で有意に瘤のサイズの増大と壁菲薄化が抑制された。qPCR 及び IHC にて、脳血管 (ウィリス動脈輪) での TGF-<math>\beta</math>1, procollagen 及び脳動脈瘤壁におけるリン酸化 Smad2/3 の発現は、Vehicle 群に対し OPG 投与群で亢進していた。炎症関連遺伝子である MMP-2, MMP-9, MCP-1, ICAM-1 発現は二群間で差を認めなかった。VSMC 全体に対する proliferating cell nuclear antigen (PCNA)陽性の VSMC の細胞数の比は、Vehicle 群に比べ OPG 投与群で上昇していた。OPG 添加により VSMC は濃度依存的に有意に増殖していたが、この効果は TGF<math>\beta</math>-R1 阻害薬の SB431542 前処理により抑制された。OPG 添加により VSMC での TGF-<math>\beta</math>1, procollagen の発現は亢進したが、同様に SB431542 前処理で抑制された。</p> <p>【考察】 OPG 欠損マウスを用いた腹部大動脈瘤モデルでは、炎症反応の亢進に伴い大動脈瘤が増悪する事が知られる。またヒトの OPG ホモ欠損遺伝子疾患である若年性 Paget 病で、両側巨大脳動脈瘤を合併した症例報告があるが、脳動脈瘤と OPG との因果関係は詳細不明である。今回脳動脈瘤モデルを用いて、OPG 投与が脳動脈瘤の増大を抑制した事から、OPG の脳動脈瘤の病態機構への関連が示唆された。</p>			

<p>慢性炎症刺激への応答として、脳動脈瘤壁での collagen の生合成は減少している。TGF-<math>\beta</math>1 は下流の転写因子の Smad2/3 経路を介して collagen 増生を促す。一方で OPG 投与は、TGF-<math>\beta</math>1 を介して collagen の発現を亢進させる事が知られる。今回 OPG 投与が collagen, TGF-<math>\beta</math>1, pSmad2/3 の発現を亢進させ(in vivo)、TGF-<math>\beta</math>1 阻害薬の投与がこの効果を抑制した(in vitro)。このことから、OPG は慢性炎症反応を改変させる事なく、TGF<math>\beta</math>1-Smad 経路を介して、脳動脈瘤壁での細胞外基質の菲薄化を抑え、脳動脈瘤の増大を抑制すると考えられた。</p> <p>慢性炎症反応を契機として脳動脈瘤壁では VSMC が減少している。今回、OPG 投与により脳動脈瘤壁中膜での PCNA の発現亢進を認め(in vivo)、TGF<math>\beta</math>-R1 阻害薬はこの効果を抑制した(in vitro)。OPG は TGF<math>\beta</math>1-Smad 経路を介して、脳動脈瘤壁での細胞外基質の菲薄化を抑え、脳動脈瘤の増大を抑制すると考えられた。</p> <p>【結語】 OPG の持続脳室内投与は、ラット実験的脳動脈瘤の増大を抑制した。この機構は、VSMC での TGF-<math>\beta</math>1 経路の活性化を介した、VSMC 増殖および collagen 増生が関連することが示された。OPG の脳動脈瘤増大に対する抑制作用は、抗炎症とは異なる脳動脈瘤の新たな治療戦略となる可能性がある。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>脳動脈瘤の組織学的特徴は、細胞外基質の減少と中膜平滑筋細胞(VSMC)の脱落であるが、コラーゲン増生や VSMC 増殖の機構は未解明である。Osteoprotegerin (OPG) は VSMC 増殖を促し、TGF-<math>\beta</math>1 発現を亢進させてコラーゲンの増生を促す。『OPG 投与が細胞外基質を増生させ、VSMC を増殖させることで脳動脈瘤増大を抑制する』という仮説を検証する目的で本研究を行った。</p> <p>7 週齢雄ラットに片側総頸動脈と腎動脈の結紮を行い、実験的脳動脈瘤を誘導した。リコンビナント OPG または Vehicle control の持続脳室内投与を 4 週間行い、脳動脈瘤のサイズと血管壁菲薄化率を評価した。また、両群において免疫組織染色を行い、脳血管壁における TGF-<math>\beta</math>1 経路の活性化を検討した。さらに、野生型マウス大動脈由来 VSMC 培養細胞を用い、OPG 投与による VSMC の増殖と、TGF-<math>\beta</math>1 や procollagen の遺伝子発現を検討した。</p> <p>OPG 投与群で有意に脳動脈瘤のサイズの増大と壁の菲薄化が抑制された。脳血管壁での TGF-<math>\beta</math>1, procollagen 及びリン酸化 Smad2/3 の発現は、OPG 投与群で亢進していた。OPG 添加により、VSMC の増殖は有意に増加し、TGF<math>\beta</math>-R1 阻害薬によりこの効果は抑制された。OPG 添加により VSMC での TGF-<math>\beta</math>1, procollagen の発現は亢進したが、同様に TGF<math>\beta</math>-R1 阻害薬により抑制された。</p> <p>以上より OPG は、VSMC での TGF-<math>\beta</math>1 経路を活性化して、VSMC 増殖およびコラーゲン増生を促進することにより、脳動脈瘤増大を抑制することが示唆された。本研究は脳動脈瘤の増大機構の解明に貢献し、新たな治療法の開発に寄与することが期待される。</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。なお、本学位授与申請者は、令和 3 年 4 月 7 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>
要旨公開可能日： 年 月 日以降