

氏 名（本籍）	オウ 王	カン 歓
学 位 の 種 類	博 士（医 学）	
学 位 記 番 号	医 博 第 2 1 8 2 号	
学位授与年月日	平 成 1 7 年 3 月 2 5 日	
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当	
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻	
学 位 論 文 題 目	ICAM-1 と P-selectin の発現に対する高血圧及び 体液液性因子レニン－アンジオテンシンシステム の関与	

（主 査）

論 文 審 査 委 員	教授 白 土 邦 男	教授 伊 藤 貞 嘉
	教授 佐 藤 靖 史	

論文内容要旨

背景

内皮細胞表面上の接着分子 (ICAM-1, VCAM-1, P-selectin, E-selectin) は、白血球と血管内皮細胞の接着を介して動脈硬化の形成に関与している。動脈硬化発生の初期には、種々の白血球が血管内皮細胞へ接着し、内皮下へ侵入することが知られている。内皮細胞表面のセレクチン (P-selectin など) と、白血球表面のそのリガンドの結合により、血管内を流れる白血球は血管内皮表面を転がるようになる (rolling)。この間に白血球表面のインテグリンが活性化され、内皮細胞表面の免疫グロブリンスーパーファミリー (ICAM-1, VCAM-1 など) と強固に接着する (anchoring)。さらに白血球が内皮下へ遊走し、粥状動脈硬化病巣の形成を促進する。接着分子の発現が粥状動脈硬化病巣に見られ、その中和抗体により白血球の血管内皮下への侵入が抑制されることより、接着分子が動脈硬化の発症や進展の上で重要な役割を担っていることが考えられる。

目的

接着分子の発現は高血圧により増加することが、人及び動物モデルにおいて多く報告されているが、それと反対の結果も認められ、未だ統一した見解は得られていない。また、近年、高血圧関連体液性因子の一つであるアンジオテンシンⅡが接着分子の発現を誘導することが報告されたが、接着分子の発現が生体内において、圧によって亢進しているのか、体液性因子によるのかどうかは不明である。今回は、ラット大動脈の狭窄により高血圧モデルを作製し、接着分子の発現が体液性因子に依存するのか、もしくは圧自身によるのかを検討した。

方法

Wistar ラット腹部大動脈に狭窄を作製し (AO group, n=20), 1 及び 4 週間後、頸動脈と大腿動脈の圧を測った後、頸動脈から採血し血液中レニンとアンジオテンシンⅡを測定した。大動脈を狭窄部より近位部と遠位部に分けて固定、保存し、Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), P-selectin, nuclear factor (NF)- κ B (P65) の発現に関して western blot 及び組織免疫染色を行った。また、内皮に接着した単球の数を評価するために、CD68 に対する抗体を用いて免疫染色を行った。Sham-operated ラットをコントロールとして作製した (SO group, n=20)。

結 果

狭窄作製後1週間ではAO groupの頸動脈平均圧のみ有意に上昇を認めた(AO vs SO(平均値±標準誤差 mmHg): 160 ± 4 vs 104 ± 2 (頸動脈); 111 ± 10 vs 100 ± 2 (大腿動脈), ($P < 0.05$)). 血液中アンジオテンシンIIはAO groupにて有意に高値であった(AO vs SO (pg/ml): 124 ± 28 vs 14 ± 2). Western blotによる解析ではICAM-1とP-selectinはAO groupの大動脈近位部にて2-2.3倍多く発現を認めたが、遠位部ではAO groupとSO groupで有意差を認めなかった。また、接着分子に関する転写因子の一つであるNF-kB (P65)もICAM-1, P-selectinと同様の変化を示した。免疫染色では、これらの分子は血管内皮細胞に存在していた。同時に、血管内皮に接着した単球もAO groupの大動脈近位部のみ増加していた。4週間後では接着分子、内皮に接着した単球及びNF-kBの発現は1週間と同じ変化を示したが血液中アンジオテンシンIIはAOとSO groupで有意差を認めなかった(AO vs SO: 9 ± 2 vs 13 ± 2)。VCAM-1の発現は実験のどの時点にても認められなかった。

考 察

大動脈内皮細胞のICAM-1とP-selectinの発現は高血圧により亢進したが、血液中アンジオテンシンIIの上昇だけでは亢進しなかった。また、内皮に接着した単球とNF-kB (P65)の発現もICAM-1及びP-selectinの変化と一致した。VCAM-1の発現は高血圧と血液中アンジオテンシンIIによりいずれも認められなかった。

結 論

血管内皮細胞におけるICAM-1とP-selectinの発現に関して機械的な負荷が重要な要素であると考えられた。

審査結果の要旨

内皮細胞表面上の接着分子（ICAM-1, VCAM-1, P-selectin, E-selectin）は、白血球と血管内皮細胞の接着を介して動脈硬化の発症進展に大きく関与している。接着分子の発現は高血圧により増加することが、人及び動物モデルにおいて多く報告されているが、それと反対の結果も認められ、未だ統一した見解は得られていない。また、近年、高血圧関連体液性因子の一つであるアンジオテンシンⅡが接着分子の発現を誘導することが報告されたが、接着分子の発現が生体内において、圧によって亢進しているのか、体液性因子によるのかどうかは不明である。本研究はラット高血圧モデルを使用し *in vivo* で高血圧及び体液性因子レニン-アンジオテンシンシステムによる ICAM-1 と P-selectin の発現に焦点を当てて検討したものである。ラットの腹部大動脈を両側腎動脈上で縛り狭窄を作ることによって高血圧モデルを作製した。本モデルの狭窄部遠位側大動脈ではアンジオテンシンⅡが上昇しているにもかかわらず正常血圧であり、高血圧の狭窄部近位側大動脈と比較することで高血圧と体液性因子の影響を検討した。ウエスタンブロット法と免疫染色法による検討の結果、ICAM-1 と P-selectin の発現は狭窄部近位側大動脈内膜に有意に増加していた。狭窄モデル遠位側大動脈、sham 手術群近位側および遠位側大動脈において、ICAM-1 と P-selectin の発現に有意差を認めなかった。また、接着分子に関する転写因子の一つである NF- κ B (P65) も同様の変化を示した。同時に、血管内皮に接着した単球も狭窄モデル近位側大動脈のみ増加していた。VCAM-1 の発現は実験のどの時点にても認められなかった。つまり、血管内皮細胞における ICAM-1 と P-selectin の発現に関して機械的な負荷が重要な要素であることが示された。

In vivo で大動脈内皮細胞の ICAM-1 と P-selectin の発現は、血液中アンジオテンシンⅡによる調節を受けず、高血圧という機械的負荷により初めて亢進することが本研究において示された。本研究の結果は今後の高血圧による血管リモデリング、動脈硬化への治療につながる研究と考えられ、臨床的意義が大きい。よって本研究は学位に十分値する研究であると考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。