

平成19年10月

嘉悦泰博 学位論文審査要旨

主 査 井 藤 久 雄
副主査 重 政 千 秋
同 久 留 一 郎

主論文

Role of cysteinyl leukotrienes in the proliferation and the migration of murine vascular smooth muscle cells *in vivo* and *in vitro*

(マウス血管平滑筋細胞増殖・遊走の*in vivo*、*in vitro*におけるシステイニルロイコトリエンの役割)

(著者：嘉悦泰博、山本康孝、杉原志伸、松浦 隆、井川 剛、松原剛一、井川 修、重政千秋、久留一郎)

平成19年 Cardiovascular Research 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

Role of cysteinyl leukotrienes in the proliferation and the migration of murine vascular smooth muscle cells *in vivo* and *in vitro*

(マウス血管平滑筋細胞増殖・遊走の*in vivo*、*in vitro*におけるシステイニルロイコトリエンの役割)

動脈硬化の進展には、炎症性サイトカインなどが重要な役割を果たしていることが知られている。システイニルロイコトリエン(Cys-LTs: LTC₄、LTD₄、LTE₄)は、アラキドン酸から5-リポキシゲナーゼ(5-L0)を介して産生される炎症前駆物質である。5-L0系と動脈硬化の関与については近年報告がされてきているが、Cys-LTsと血管リモデリングの進展についての関係知られていない。また、血管リモデリングの進展に関しては血管平滑筋細胞増殖・遊走が大きな役割を果たしていることが知られている。

本研究ではマウス大腿動脈ワイヤー傷害モデルを用い、Cys-LTsと血管平滑筋細胞増殖・遊走についての検討を行なった。

方 法

実験には8週齢の野生型マウス(C57BL/6J)を用いた。マウスの大腿動脈をヒト冠動脈カテーテル治療用のワイヤーで傷害し、4週間後の血管平滑筋の新生内膜形成を評価した。免疫組織化学染色、RT-PCR法を用い、Cys-LTsのreceptorであるCys-LT₁、Cys-LT₂の発現を検討した。ワイヤー傷害後、Cys-LT receptor antagonistであるMontelukastを体内埋め込み式浸透圧ポンプを用いて投与した群ならびにコントロール群の両群間でワイヤー傷害4週間後に大腿動脈の新生内膜の増殖を比較した(I/M ratio: 内膜/中膜面積比)。

8週齢の野生型マウスの大動脈より採取した平滑筋細胞を培養し、Cys-LTsにより48時間培養刺激し、平滑筋細胞の増加数をコントロール群と比較した。さらにMontelukastを培養上清に加え、Cys-LTsによる平滑筋細胞増殖刺激に対する影響を検討した。Boyden Chamberを用い、Cys-LTsによる6時間の刺激を行い、血管平滑筋細胞の遊走に対する影響、Montelukast添加の効果さらにCys-LTsによる平滑筋細胞遊走刺激に対する影響を検討した。

結 果

ワイヤー傷害4週後のマウス大腿動脈新生内膜において、免疫組織染色にてCys-LTsの receptorであるCys-LT₁、Cys-LT₂発現が見いだされた。RT-PCRにてワイヤー傷害1週後、2週後、4週後のマウス大腿動脈においてCys-LT₁、Cys-LT₂が発現していた。Montelukast投与群においてマウス大腿動脈における新生内膜形成はコントロール群に比較して有意に抑制された。

LTD₄投与によりマウス血管平滑筋細胞増殖は促進された。LTC₄、LTE₄について増殖刺激作用は認められなかった。Montelukastを加えることによりLTD₄による平滑筋細胞増殖は抑制された。Cys-LTs (LTD₄、LTC₄、LTE₄)投与によりマウス血管平滑筋細胞遊走は促進された。Montelukast添加によりCys-LTsによる平滑筋細胞遊走は抑制された。

考 察

MontelukastはCys-LT receptorのantagonistであり、*in vivo*の系においてマウスの大腿動脈新生内膜形成を阻害することが示された。マウス大腿動脈の新生内膜においてCys-LT₁、Cys-LT₂が発現していることから、Montelukastの作用は新生内膜の血管平滑筋細胞におけるCys-LT receptorを介していることが示唆された。*In vitro*の系においてはLTD₄はマウス血管平滑筋細胞の増殖刺激作用を示し、Cys-LTsはマウス血管平滑筋細胞の遊走刺激作用をもつことが確認された。それぞれMontelukast投与により抑制されたことにより、これらの作用がMontelukastの*in vivo*における新生内膜増殖の抑制作用の機序の一つであることが示唆された。

結 論

MontelukastはCys-LT receptorを阻害することにより、Cys-LTsの血管平滑筋細胞増殖・刺激作用を阻害し、新生内膜形成を抑制することが明らかとなり、抗動脈硬化薬としてのCys-LT receptor antagonistの有用性が示唆された。