

氏名	いの うえ まゆみ 井 上 真由美
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2548 号
学位授与の日付	平成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系(臨床病態医科学)専攻
学位論文題目	Oxidized LDL Regulates Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Human Macrophages and Endothelial Cells Through Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ に関する研究 (PPAR $\gamma$ を介した酸化 LDL によるヒトマクロファージおよび内皮細胞における VEGF 発現調節)
論文調査委員	(主 査) 教授 北 徹 教授 西川伸一 教授 中尾一和

### 論 文 内 容 の 要 旨

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) はこれまで、腫瘍細胞での意義が注目されてきたが、その後、VEGF 受容体が内皮細胞のみならずマクロファージにも存在することが報告された。動脈硬化症は、内皮障害及びマクロファージ浸潤が重要であるので、申請者らは、VEGF の動脈硬化症における意義を想定し、ヒト冠動脈硬化症における VEGF 発現を病理学的に検討した。その結果、正常血管には VEGF 発現はみられず、一方動脈硬化血管では内皮細胞、血管平滑筋細胞およびマクロファージに VEGF 発現が認められた。この成績を踏まえ、本研究ではヒト冠動脈病変における VEGF 発現亢進のメカニズムを解明することを目的とし、動脈硬化症の発症・進展において重要な酸化 LDL の VEGF 発現における意義を検討した。

#### I 培養ヒト冠動脈内皮細胞及びヒトマクロファージの VEGF 発現に対する酸化 LDL の関与

培養ヒト冠動脈内皮細胞 (HCAEC) 及びヒト単球/マクロファージの VEGF 産生における酸化 LDL の関与を検討した。HCAEC において、酸化 LDL 10-50 $\mu$ g/mL 添加で VEGF mRNA は用量依存性に亢進した。細胞免疫染色でも酸化 LDL 投与後 24 時間で HCAEC の VEGF 発現は増加した。また、ヒト急性単球性白血病細胞 (THP-1) においても酸化 LDL 10-50 $\mu$ g/mL 添加により VEGF 分泌量は用量依存性に増加した。

#### II 酸化 LDL による VEGF 発現亢進における Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ (PPAR $\gamma$ ) の意義

酸化 LDL 成分である、9-及び 13-hydroxy-(S)-10, 12-octadecadienoic acid (9-, 13-HODE) が核内受容体である PPAR $\gamma$  の内因性リガンドとして報告された。PPAR $\gamma$  は脂肪細胞のみならず、内皮細胞 (HCAEC)、単球/マクロファージ (THP-1) にも発現していることから、酸化 LDL による VEGF の制御における PPAR $\gamma$  の意義を検討した。

PPAR $\gamma$  アゴニストであるトログリタゾン (10 $\mu$ M) を THP-1 に添加したところ、VEGF 分泌はコントロールの 3.9 倍に上昇した。また、HCAEC 及び THP-1 の VEGF mRNA 発現も、トログリタゾン 0.1-10 $\mu$ M 添加で用量依存性に亢進した。PPAR $\gamma$  の内因性リガンドである 15-deoxy-D12, 14-prostaglandin J2 (PGJ2) 0.1-10 $\mu$ M の添加でも同様の結果であった。一方、他の単球/マクロファージの細胞株で、PPAR $\gamma$  発現のないヒト組織球性リンパ腫細胞 (U937) ではトログリタゾンや PGJ2 の添加で VEGF 発現の増加は見られなかった。U937 細胞に PPAR $\gamma$  発現プラスミドを導入すると、トログリタゾン 10 $\mu$ M の添加で VEGF 分泌は 2.6 倍に増加した。さらに、9- および 13-HODE 1-5 $\mu$ g/mL の添加でも THP-1 からの VEGF 分泌は増加した。また、U937 において、酸化 LDL 10 $\mu$ g/mL 添加により VEGF 分泌の増加は認めなかったが、PPAR $\gamma$  遺伝子導入 U937 では VEGF 分泌の亢進を認めた。

以上より、酸化 LDL が内皮細胞とマクロファージの VEGF 産生を刺激することが証明され、その作用の少なくとも一部は PPAR $\gamma$  の活性化を介している可能性が示された。VEGF は内皮細胞の修復やマクロファージの動員を促すことから

VEGF の動脈硬化症の発症・進展における意義が示唆される。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者は VEGF がヒト冠動脈硬化病巣の内皮細胞、単球／マクロファージ、血管平滑筋細胞に発現していることを病理学的検討により明らかにしてきた。本研究では動脈硬化症の発症・進展に重要な酸化 LDL の VEGF 発現への影響を検討した。その結果、培養ヒト冠動脈内皮細胞および単球／マクロファージにおいて酸化 LDL が VEGF 発現を亢進させることが明らかとなった。さらに、酸化 LDL の構成成分である 9- および 13-HODE が核内受容体である PPAR $\gamma$  のリガンドであること、および PPAR $\gamma$  が内皮細胞やマクロファージに発現していることより、酸化 LDL による VEGF 発現制御における PPAR $\gamma$  の意義について検討した。PPAR $\gamma$  のリガンドであるトログリタゾン及び 15-deoxy-D12, 14-prostaglandin J2 さらに酸化 LDL が、PPAR $\gamma$  依存性に内皮細胞および単球／マクロファージにおける VEGF 発現を亢進させることを示した。また、9- および 13-HODE も同様の作用を示した。以上より、酸化 LDL による VEGF の発現亢進作用の少なくとも一部は PPAR $\gamma$  の活性化を介する可能性が示された。

本研究は、酸化 LDL が PPAR $\gamma$  を介して血管内皮細胞と単球／マクロファージにおける VEGF 産生を亢進させることをはじめて明らかにし、VEGF の動脈硬化症の発症・維持における意義を示唆した。

以上の研究は動脈硬化の発症・進展の機序の解明に貢献し、動脈硬化症の新しい治療法および予防法の開発に寄与するところが多い。

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、本学位授与申請者代平成15年1月31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。