

氏名(本籍)	まつもと しゅんいちろう 松本俊一郎(神奈川県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第1,932号		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	ウサギ大動脈硬化におけるマトリックスメタロプロテアーゼ-12の発現とその役割に関する研究		
主査	筑波大学教授	医学博士	山下 亀次郎
副査	筑波大学教授	医学博士	岡戸 信男
副査	筑波大学教授	医学博士	濱口 秀夫
副査	筑波大学教授	医学博士	岡戸 信男
副査	筑波大学教授	医学博士	濱口 秀夫
副査	筑波大学助教授	理学博士	石井 哲郎
副査	筑波大学講師	医学博士	五十嵐 和彦

論文の内容の要旨

(目的)

コレステロールを主体とする脂肪沈着を伴う動脈硬化は、血栓形成を介して動脈内腔の狭窄や閉塞を起し、心筋梗塞、脳梗塞などの原因となる。動脈硬化の発症は、病変部位での脂肪沈着という病理所見を基に、脂質代謝の面と近年は血管生物学の立場から分子レベルでの研究が行われてきた。

一方、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)は金属依存性の細胞外マトリックス(ECM)分解酵素の総称であり、ヒトで14種類が報告されている。MMPは動脈硬化の進展時において発現が観察されており、特に病巣部の血管内膜および中膜で発現が認められている。

本研究では、MMPファミリーに属するMMP-12(マクロファージ・メタロエラスターゼ)の主要な発現細胞であるマクロファージが、動脈硬化進展時に中心的役割をもつことに着目し、MMP-12の発現を病理学的、および分子生物学的手法を用い検討した。

(対象と方法)

1. 動脈硬化モデルウサギでのMMP発現解析(特にMMP-12について)

正常ウサギの各臓器と1%コレステロール食を16週間摂食させ動脈硬化を発症したウサギ大動脈弓および胸部下行大動脈での5種類のウサギMMPの発現についてNorthern blot解析を行った。また、動脈硬化病巣でのMMP-12の蛋白質レベルでの発現はマウス抗ウサギMMP-12ポリクロナル抗体を用い免疫組織染色を行った。更に、大動脈弓および胸部下行大動脈より macrophage foam cell (MFC) を分離培養し、上清中のMMP-12の発現をWestern blot解析した。

2. ウサギMMP-12の生化学的性状解析

大腸菌発現用プラスミド pETベクターにウサギMMP-12の活性ドメインcDNAを挿入した。発現蛋白質より精製MMP-12 catalytic domain を得て、ECM構成蛋白分解活性能、他のMMP活性化能を調べ、さらにヒトマクロファージ細胞株を用い泡沫化過程でのMMP-12の発現について検討した。

(結果と考察)

1. コレステロール摂食動脈硬化モデルウサギの大動脈病巣部位では、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-12

の強い発現が観察され、大動脈内膜に蓄積した macrophage foam cell (MFC) を主たる発現細胞としていた。

2. MMP-12はエラスチン分解のみならず、基底膜破壊も起こすことが示された。

更に、MMP-12は他のMMP活性化を介して大動脈ECMの体系的な分解を惹起することが示唆された。

3. 変異LDL刺激により、マクロファージからのMMP-12発現は促進された。

以上の結果から、動脈硬化発症・進展過程で、マクロファージからMFCへの形質変換が起こる際に、MMP-12が動脈硬化病変部位に認められ、基底膜構成成分であるIV型コラーゲンとフィブロネクチンを分解した。これらの現象は血管基底膜破壊を起こし、単球やTリンパ球などの炎症性細胞の浸潤を惹起する可能性を示唆した。また、MMP-12が前駆型MMP-12と前駆型MMP-3を時間・濃度依存症に活性化したことは、大動脈を構築する多くのECM蛋白質の分解に関与することを示唆した。なお、変異LDL刺激によりMMP-12発現が遺伝子転写レベルで増大したことは、その細胞内機構として protein kinase C依存性MAPキナーゼの活性化、転写因子AP-1の形成が想定されるが、今後の課題である。

審 査 の 結 果 の 要 旨

動脈硬化の発症・進展機序の解明のため、コレステロール摂食動脈硬化モデルウサギを用い病理学および分子生物学的手法により検討した。

その結果、大動脈病巣部位において活性化されたマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) -12 が細胞外マトリックス (ECM) 蛋白質と他の前駆型MMPを活性化することを初めて証明し、MMP-12が動脈硬化の発生・進展のカスケードの過程で重要な役割を果たすことを明らかにしたことは重要な知見である。また、MMP-12の発現が従来から重視されている変性LDLと関連づけられたことも意義が大きい。本研究の成果は動脈硬化の予防と治療の確立にも有益な知見であると考えられる。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。