

## 動脈硬化から NASH, メタボリックシンドロームへ ～ 遺伝子改変動物モデルを用いた病理組織学的検討 ～

やまだ そうすけ

山田 壮亮

金沢医科大学 臨床病理学

Key words : Atherosclerosis, animal model, peroxiredoxin (PRDX)4, metabolic syndrome.

### Abstract

動脈硬化とその合併症は世界の総死因約3割を占めており、その克服は医学領域のみならず社会経済的にも特に重要な課題である。我々は、動脈硬化が病理組織学的に炎症を基盤とし発生・進展していることに着目し、そのメカニズム解明のため、マウス、ウサギ等の遺伝子改変動物モデルを用いた形態学、生化学、分子生物学的手法による解析とを統合した「形態から分子」に至る、幅広い視野での研究を行っている。さらに、動脈硬化、NASH等を表現型とする「メタボリックシンドローム」というentityより俯瞰することによって、腸管機能や脂質を含む代謝プロセスの解明の中から、慢性炎症性疾患を多角的・包括的に捉え直すことを目指している。

### はじめに

慢性炎症性複合性病変・脂質代謝異常性疾患として捉えている、動脈硬化を軸に、ライフワークとして研究している。なぜ「動脈硬化」を研究テーマとしたのか、それは動脈硬化とその合併症が世界の総死因約3割をも占めており、その克服は医学領域のみならず社会経済的にも特に重要な課題となっているからである。「がん」研究一辺倒となりつつある周囲の状況に対して、逆行したいという思いも後押ししているようにも思う。私は、動脈硬化が病理組織学的に炎症を基盤とし発生・進展していることに着目する。これまでに、炎症病理、血管細胞生物学を専門、武器として、そのdiversityを駆使し、脂質代謝性疾患・癌を含め多岐にわたるテーマに挑んではいる。それも、動脈硬化を単に局所性疾患として捉えるだけでなく、全身性疾患としてもsystemicに捉え直したい、その思いを常に持っているからであろう。

我々病理医が目にするのが多いのは、病理解剖

時の、動脈瘤等を呈する進行性動脈粥状硬化病変である。しかし、立ち止まってみるに、その初期病変における動脈粥状硬化発生進展のメカニズムはどうなっているのだろうか。ヒト検体を用いての模索はやはり困難であろう。そこで、ここにお示しているkeywordを基に(図1)、私自身が着目・作製に関わらせていただいた、多くの遺伝子改変動物を中心に用い、初期病変から進行性病変に至る、その動脈硬化、広義としては非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)などを含むメタボリックシンドロームのメカニズムの一端を、僭越ながら解明して参れたと自負するところである。古典的炎症物質ヒスタミン<sup>1)</sup>、弾性線維分解酵素matrix metalloproteinase(MMP)-12<sup>2)</sup>、アポトーシス誘発因子apoptosis signal-regulating kinase 1(ASK1)<sup>3)</sup>、抗酸化ストレス因子peroxiredoxin 4(PRDX4)<sup>4)</sup>…このような切り口をもって、先ずは動脈硬化研究の端緒とさせていたいただいたのである(図1)。

特に動脈硬化の最初期相に関しては、有名な、Russel Rossによる内皮細胞(EC)障害に端を発する、inside-out signalingに、未だ依拠している<sup>5)</sup>。動脈硬化の成り立ちについての、この古典的仮説‘response to injury theory’では、高脂血症や高血圧などによる、慢性的なEC障害によって、単球がECに接着し、基底膜を越えて内膜に侵入、酸化したlow-density lipoprotein(LDL)コレステロールを主とする脂質を食食し泡沫細胞(Mφ)となって、早期病変であるfatty streak脂肪線条を形成すると述べられてきた<sup>5)</sup>。それだけでなく、平滑筋細胞(SMC)の内膜への移行・増殖、細胞外基質マトリックスの形成、等々も加わる慢性炎症性複合性疾患で、アポトーシスや酸化ストレスを含む多くの原因が複雑に絡みあって発生する。現実、まだまだ病変形成・進展のメカニズムを俯瞰できていないのである。

Histopathological examination in animal models of atherosclerosis, NASH to metabolic syndrome : Sohsuke Yamada  
Department of Pathology and Laboratory Medicine, Kanazawa Medical University

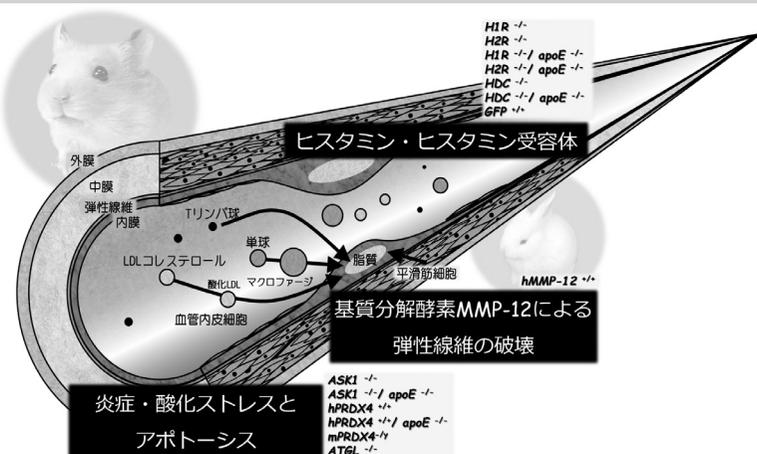


図1 私自身が着目・作製に関わらせていただいた、多くの遺伝子改変動物

これらのウサギ・マウスを中心に用い、初期病変から進行性病変に至る動脈硬化、広義としてはNASHなどを含むメタボリックシンドロームのメカニズムの一端を、解明してきた。古典的炎症物質ヒスタミン、弾性線維分解酵素 MMP-12、アポトーシス誘発因子 ASK1、抗酸化ストレス因子 PRDX4…このような切り口をもって、まずは動脈硬化研究の端緒とさせて頂いた。

## 1. これまでの動脈硬化研究で得られた知見の overview

ヒト動脈硬化の動物モデルには、代表的なものとして二つ、①高脂血症モデルと②血管障害モデルとが知られている<sup>1,3,4)</sup>。

①高脂血症誘導による粥状硬化モデルでは、4カ月齢のJapanese White Rabbit, 8週齢のApolipoprotein Eノックアウト (ApoE-KO) マウス各々に、1.0～1.25%高コレステロール食 (HcD) を負荷し、6～12週負荷後に大動脈を摘出する。最初に Oil red O 染色を行い、肉眼的に動脈硬化を評価し、その後、大動脈組織の連続切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (H&E) 染色, Masson's Trichrome 染色, 免疫染色, さらに terminal deoxynucleotidyl transferase end-labeling (TUNEL) 染色等を行う。ヒト粥状硬化病変、いわゆる粥腫と非常に類似した組織像が認められる。

一方、②血管障害モデルの一つ、総頸動脈結紮モデルでは、総頸動脈分岐部中枢側を結紮し、2～3週後、総頸動脈結紮部より中枢側へ連続切片を作製して、組織学的・免疫組織化学的に観察する。血管を閉塞し、shear stress (ずり応力) の低下や血流の乱れに起因した EC 傷害を惹起するモデルである (正に, inside-out signaling)。ヒトの経皮的冠動脈形成術後の再狭窄組織像に類似した組織像を呈する。肥厚内膜は主に SMC (様細胞) の移行により構成されている<sup>1)</sup>。

### a) MMP-12

動脈壁を構成する一大要素、弾性線維を破壊し得

る細胞外基質分解酵素 (MMP) -12 に注目し、動脈硬化に関する実験を進めた。MMP-12 は、ヒト動脈硬化性疾患にとって致命的なプラーク破綻にも深い関わりを持つとされる。ヒト MMP-12 を Mφ 特異的に発現するトランスジェニック (Tg) ウサギを作製し、上記の①高脂血症による粥状硬化モデルと、②総頸動脈結紮等による血管障害モデルを各々施行した<sup>2)</sup>。Tg の、特に初期動脈硬化巣において、より多くの単球・Mφ、または SMC が新生内膜に侵入しており、高度の内膜肥厚と弾性線維破壊を伴っていた。これら Mφ および SMC は、各々、特異的にヒト MMP-12 を発現していることが、病理組織学的、分子生物学的に確認される。MMP-12 は動脈硬化促進に非常に重要な役割を有していることが明らかとなり、早期病変における MMP-12 の炎症病理学的重要性を見出すことになる。同時に、①では内膜、②では外膜に主に存在する、MMP-12 発現 Mφ がそれぞれ病変形成に寄与していることも示唆され、各モデルにおける動脈硬化の成り立ちに違いのあることも推察された<sup>1,2)</sup>。

### b) ヒスタミン

平行して、様々な生体反応を調節する古典的炎症物質ヒスタミンの、急性やアレルギー性ではなく、慢性炎症性疾患、動脈硬化におけるユニークな役割に注目した。その受容体である1型と2型ヒスタミン受容体の、相互的で複雑な役割を見出すことに成功する<sup>1)</sup>。

総頸動脈結紮による②血管障害モデルでは、1型ヒスタミン受容体欠損の動脈硬化抑制、2型ヒスタミン受容体欠損の動脈硬化促進を、それぞれ phenotype として確認し、さらには、骨髄由来細胞におけるヒスタミン受容体発現の炎症病理学的作用の

重要性を、世界で初めて見出した<sup>6)</sup>。一方、これら1型と2型ヒスタミン受容体の、各動脈硬化モデルにおける、相互的で複雑な役割を見出すことも可能ならしめた。①高脂血症モデルでは、血管障害モデルと逆の結果で、1型ヒスタミン受容体欠損による動脈硬化促進の phenotype を見出すことになったのである<sup>7)</sup>。

## c) ASK1

上記で得られた知識・技術を基盤として、炎症病理におけるアポトーシスの重要性を検討した。アポトーシスを誘発することが知られている regulator の一つ、ASK1の動脈硬化における役割に注目する<sup>3)</sup>。

動脈硬化各モデル(上述の①高脂血症モデル+②血管障害モデル)における、アポトーシスの相互的で重要な炎症病理学的機能、さらにASK1 knockoutによる安定プラーク形成への寄与を見出すことに成功した。①ASK1を欠損させることで、マウスHcD誘導粥状硬化モデルにおける、大動脈粥腫病変形成が有意に進行した<sup>8)</sup>。これらは内膜内M $\phi$ のアポトーシスが著明に抑制されていた事に因るところが大きい。②逆に、同ASK1欠損マウスでは、総頸動脈結紮モデルによる新生内膜肥厚性の動脈硬化形成・進展が、有意に抑制された<sup>9)</sup>。これらは血管SMCのアポトーシスが著明に減少していた事に因るところが大きい。

動脈硬化病変の主要素となる各細胞、初期から後期に至る各相 phase、等々により、動脈硬化形成・進展は大きく依拠しており、いや中々とらえどころのない病理像を目の当たりにした。

## d) PRDX4

さらに、酸化ストレスが重要なアポトーシス誘発因子であることに着目した。

抗酸化ストレス作用を持つ酵素ペルオキシレドキシシンPRDX4が、動脈硬化を抑制する作用について、トランスジェニック(Tg)マウスを用いた動物モデルでの解析を行った。まだ注目されていなかった、唯一分泌型として知られるPRDX4の非常にユニークな生体防御機構を、抗アポトーシス作用を有することも併せて、世界で初めて見出すことに成功した<sup>4)</sup>。

①高脂血症モデルにおける動脈硬化巣の比較検討をしたところ、肉眼的評価および組織学的評価共に、Tgマウスでは、粥状硬化の形成は有意に抑制されていた<sup>10)</sup>。粥腫内のアポトーシスを、古典的手法であるTUNEL染色にて分析した。TgではSMCおよびM $\phi$ 各々のアポトーシスが有意に減少していることが細胞カウントにて明らかになった。さらに、TUNELと血管内皮EC特異マーカーであるCD31を用いた、*en face* 蛍光二重染色による大動脈ECアポトーシスの評価を施行したところ、Tgマウスではアポトーシスも有意に抑制されており、EC障害の抑えられていること

が強く示唆された。まさに、細胞内外に高発現したPRDX4が、inside-out signalingを有意に抑制したことを直接的にとらえることを可能ならしめた<sup>10)</sup>。

ところで、当モデルにおける様々な代謝指標 metabolic parameter の比較を行ったところ、ApoE-KOとTgマウスの体重、血糖値、血中コレステロール値はほぼ同じで有意差は認められなかった。ただ非常に興味深いことに、HcD負荷12週後のTgマウスでは、ApoE-KOマウスに比べて、血圧が有意に低く抑えられていることが確認されている<sup>10)</sup>。PRDX4のsystemicな効果を反映したものと考察される。

## 2. ヒト metabolic syndrome の動物モデル研究 ～PRDX4トランスジェニック(Tg)マウスを通じて～

次に、ヒト metabolic syndrome の動物モデル研究の成果を、抗酸化ストレス因子PRDX4の防御的役割に焦点を当てながら述べさせていきたい。繰り返しになるが、動脈硬化を単なる局所性疾患として捉えるだけでなく、全身性疾患として捉えるべく、最近では、動脈硬化、2型糖尿病(DM)、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)等をも表現型として包含する metabolic syndrome、生活習慣病をも対象としてきているのである。

### a) 酸化ストレス

酸化ストレスの主な解毒経路を考慮するに、まず、スーパーオキシド superoxide やヒドロキシラジカル hydroxyl radical と行った強度の酸化ストレス因子を、スーパーオキシドディスムターゼ superoxide dismutase (SOD) が過酸化水素 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> に解毒化する。さらに、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> が水 H<sub>2</sub>O までに完全に解毒化されるルートがいくつか知られている。その中で、チオレドキシシン thioredoxin (TRX) を電子供与体とする酸化還元(レドックス)分子の一つであるペルオキシレドキシシン peroxiredoxin (PRDX) の作用により、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> が解毒化される重要な1ルートが存在する<sup>4,11)</sup>。これは、グルタチオン glutathione を電子供与体とするグルタチオンペルオキシダーゼ glutathione peroxidase (GPX) とよく似たレドックス系を形成していることになる。

我々が生命活動の営みの中で恒常的に産生しつづける、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>をはじめとした活性酸素種(Reactive Oxygen Species; ROS)においては、その酸化能による直接的細胞障害因子としての役割だけではなく、非常に緻密化された、細胞内シグナル伝達因子、さらにはその制御因子という、もう一つの新しい重要な機能も認識されてきている<sup>4)</sup>。特にこの後者において、新規抗酸化酵素PRDXの本領がいかに発揮されているのではないかと、我々は考えているものであ

る。従来からよく知られているカタラーゼ catalase や GPX は、非特異的に抗酸化に働くと言われているが、PRDX の中には限定された分子と特異的に結合し、細胞内シグナル伝達の制御に働く H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の量を木目細かく制御していることが明らかになってきた<sup>11)</sup>。だからこそ、PRDX は重要な抗酸化蛋白質ファミリーの一つとして認識されている訳である。

PRDX は少なくとも 6 種類に及ぶ生体内発現が報告されている。特に PRDX4 は、N 末端側に特徴的な分泌シグナル (アミノ酸) 配列を有することから、他の PRDX と発現型を異にし、唯一の分泌型として発現していることが示唆される<sup>4)</sup>。そして、細胞内におけるシグナル伝達を精密に制御するだけではなく、血管内を含む細胞外領域において ROS からの組織傷害も防御する役割を有しているとの仮説が立てられた。実際、先行実験である 1 型糖尿病誘発マウスモデルや<sup>12)</sup>、上記の動脈硬化マウスモデルにおいて<sup>10)</sup>、ヒト PRDX4 の高発現が見られる豚ラ氏島や大動脈では、増加する酸化ストレスおよびサイトカインを伴った炎症が、PRDX4 により特異的に抑制、防御され、PRDX4 が生体内で保護的に機能していることを、我々は報告してきた<sup>10, 12)</sup>。我々は、NASH を始めとして表現型とする metabolic syndrome に対しても、この注目に値する PRDX4 が、直接的・間接的に防御的役割を有しているであろうと考え解析を進めているのである。

#### b) Tg マウスの作製

ヒト PRDX4 (hPRDX4) のトランスジェニック (Tg) マウスを作製し、下記モデルにて PRDX4 のメタボリックシンドロームに対する生体内防御機能を検討した。上流のサイトメガロウイルスエンハンサー/プロモーター cytomegalovirus (CMV) enhancer/promoter と hPRDX4 の cDNA を含むトランスジーン transgene を、野生型 C57BL/6 (Wild Type; WT) マウスの原核へ顕微注入 microinjection することにより、Tg マウスを得た<sup>4)</sup>。この CMV enhancer/promoter は、activator protein 1 (AP1), nuclear factor-kappa B (NF-κB), および cAMP Response Element Binding protein (CREB) などの多くの転写因子との結合領域を含んでいることが分かっている<sup>4)</sup>。従って、炎症性サイトカインおよび ROS などの刺激により、この CMV promoter は活性化され易い状態になっていると考えられる訳である。脂質代謝障害等等で慢性炎症および酸化ストレスが充進した状態では、当マウス生体内において、hPRDX4 が特異的に産生され続けているであろうと推察される。実は、この hPRDX4 transgene の CMV promoter は、組織特異的ではない。さらに導入遺伝子の発現は、マウスゲノム (genome) 内の結合部 (integration site) に大きな影響を受け、偶然性要因とすることが非常に大きい。が、全身諸臓器 (肝、膵、大動脈など) における hPRDX4 の発現を、実際我々

は確認している<sup>10, 12)</sup>。

#### c) PRDX4 は肝だけではなく小腸機能をも保護することにより、metabolic syndrome を抑制する

ここでは特に、③ HFrD+STZ モデル<sup>13)</sup>: 食餌性および薬物性の高フルクトース食 (高血糖を誘因する) および豚ラ氏島 β 細胞を特異的に傷害するストレプトゾトシン注射 (HFrD+STZ) モデル、および、古典的に良く知られている④ MCD+HF モデル<sup>14)</sup>: メチオニン・コリン欠乏+高脂肪食による食餌性モデル (MCD+HF) の、二つの非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) を呈するメタボリックシンドロームモデルに注目しよう。

③ HFrD+STZ モデル (図 2) では、肉眼的に対照群の WT マウス肝は黄白色調を示す一方、Tg マウス肝では暗赤色調のままであった。組織学的に WT マウス肝は中心静脈周囲 (zone3) を主体に脂肪の沈着が見られる一方、Tg マウス肝では脂肪沈着が抑制されている。さらに、WT マウス肝では炎症細胞浸潤が見られるのに対し、Tg マウス肝では炎症も抑制されていた。ごく少数ではあるものの、WT マウス肝のみでは風船様変性を来した ballooning 細胞が認められる。以上より、Tg マウス肝では、PRDX4 の高発現により、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) 様病態が抑制されていると判断された (図 2)。もう一つの NAFLD モデル、④ MCD+HF モデルを施行するに、Tg マウスの NASH が抑制されるのは言わずもがな、興味深いことに、Tg マウス小腸全長の短縮が抑制されるだけでなく、組織学的に絨毛の萎縮も抑制されていた (図 3)。以上より、Tg マウスでは、PRDX4 の高発現により、Tg 肝および小腸機能も保護されており、PRDX4 の全身諸臓器への保護効果が示唆された。実際、Tg マウスの十二指腸陰窩において、上皮の TUNEL 陽性アポトーシス細胞は有意に減少しており、逆に 5'-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 陽性増殖細胞は有意に増加していた。小腸上皮機能が PRDX4 により保護されていることが裏付けられたと言えよう。

ここで我々は、NASH と腸内細菌との相関性に focus した。実際、ヒト NASH 患者において、小腸内細菌異常増殖 (SIBO: Small Intestinal Bacterial Overgrowth) が報告されており、Bacteroidetes 門の占める割合が有意に低下し、消化管機能障害との関連性が示唆されているからである<sup>14, 15)</sup>。上記④ MCD+HF 2 週後の NASH モデルの糞便を、WT, Tg マウス各々より採取し、16S ribosomal RNA gene-based clone library method という方法により解析した<sup>14)</sup>。Tg マウス糞便中には、WT マウス糞便と比較するに、より多数の腸内細菌が存在する傾向にあった。さらに、Bacteroidetes 門の占める割合がやや低く、逆に Firmicutes 門の占める割合がやや高い様に見受けら

## HFrD+STZ モデル

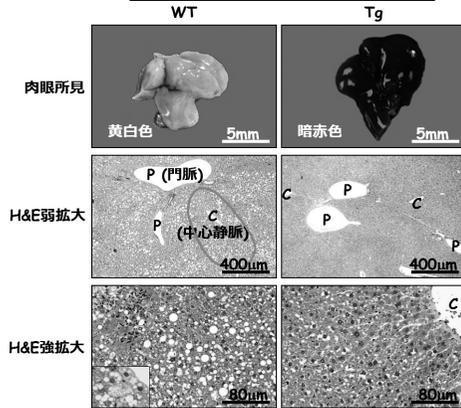


図2 HFrD+STZによるNASHモデルにおけるPRDX4の肝保護効果

肉眼的に対照群のWTマウス肝は黄白色調を示す一方、Tgマウス肝では暗赤色調のままである。組織学的にWTマウス肝は中心静脈周囲(zone3)を主体に脂肪の沈着が見られる一方、Tgマウス肝では脂肪沈着が抑制されている。さらに、WTマウス肝では炎症細胞浸潤が見られるが、Tgマウス肝では炎症も抑制されていた。ごく少数ではあるものの、WTマウス肝では風船様変性を来したballooning細胞が見られていた(inset)。以上より、Tgマウス肝では、PRDX4の高発現により、NASHが抑制されている。

れたが、いずれも両者間に有意差は認められなかった。Sampleの増数も含め、今後の検討が待たれるところであるし、非常に興味深い研究分野であろう。

最後に、PRDX4の、メタボリックシンドロームに対する保護作用に関するschemaをお示ししたい(図4)。PRDX4が組織中及び血中で高発現することで、局所および循環レベルにおいて、酸化ストレス、ROSが有意に減少する。NASHを含めた病変部(in vivo)において、肝細胞および陰窩上皮細胞のアポトーシスが抑制され、さらに炎症細胞浸潤、肝星細胞stellate cell数も減少する。小腸機能が保護される相乗効果もあいまって、最終的に、脂質(・糖)代謝の恒常性維持や慢性炎症の抑制により、脂肪沈着・線維化が抑制され、肥満・NAFLDだけでなく2型DMをも表現型とする、メタボリックシンドロームから生体は保護されている。

結語としては、抗酸化ストレス因子のうちでも、特に細胞内外で発現するPRDX4は、動脈硬化・NASHの発生・進展に対して、予防的・保護的に働いている可能性が示唆され、メタボリックシンドロームへの治療応用が期待されよう。

## おわりに

NASHの発生機序として、古典的には(死語になりつつあるが)、便宜上説明しやすいtwo hit

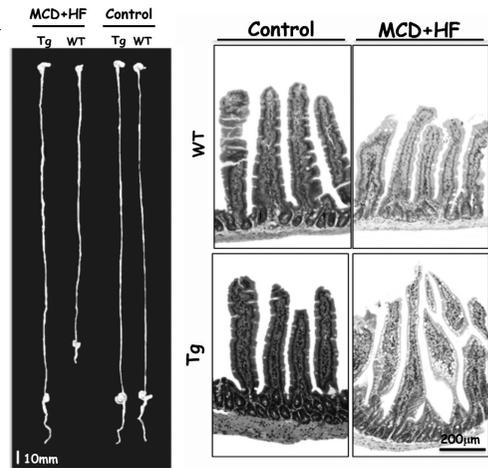


図3 MCD+HFによるNASHモデルにおけるPRDX4の小腸保護効果

興味深いことに、WTマウス小腸では、control小腸に比べて、モデル小腸の有意な短縮と、小腸上皮の組織学的短縮も認められた。が一方、Tgマウスのモデル小腸では、小腸全長の短縮だけでなく絨毛の短縮も、明らかに抑制されていた。以上より、Tgマウスでは、PRDX4高発現により、Tg肝および小腸機能も保護されており、PRDX4の全身諸臓器への生体内保護効果が示唆される。

theoryが知られており、まず正常肝に脂肪蓄積が起り、脂肪肝へ進展したのちに代謝異常、炎症性サイトカイン、酸化ストレスが加わりNASHが発生すると言われている<sup>13)</sup>。さらに進展してアポトーシス、線維化がthird hitとなり、肝硬変、肝細胞癌(HCC)に進展し得る<sup>13,14)</sup>。が、最近では、これら因子が多発、多層性に絡んで発生するmultiple parallel hitが主流の考え方になってきている。いずれにせよ、そこで、現在進行中の実験系であるが、マウスHCCモデルを施行している。HCC誘発剤であるdiethylnitrosamine(DEN)を毎週1回、各群(4週齢のWT、Tgマウス、そしてPRDX4-KOマウス)に腹腔内投与し、25週経過した時点で解剖を行う。結果は、予想を裏切らず、Tgでは9匹中1匹もHCCが認められなかったのに対して、(ROSに曝されやすい)PRDX4-KOマウスでは8匹中6匹にHCCが認められた。PRDX4の、様々な癌における生体保護作用に関しても、現在進行中で実験を進めているところである。

最後に、今後の動脈硬化を含むmetabolic syndrome研究において、わたくし自身が自らに課すmottoは、「inside-out signalingからの脱却」、「LDLコレステロールからの脱却」、そして「Animal modelからの脱却」でありたい。その一つのきっかけになり得るものを、ここに紹介して筆を置かせていただく。結紮モデルと両翼を成す血管障害モデルである、カフモ

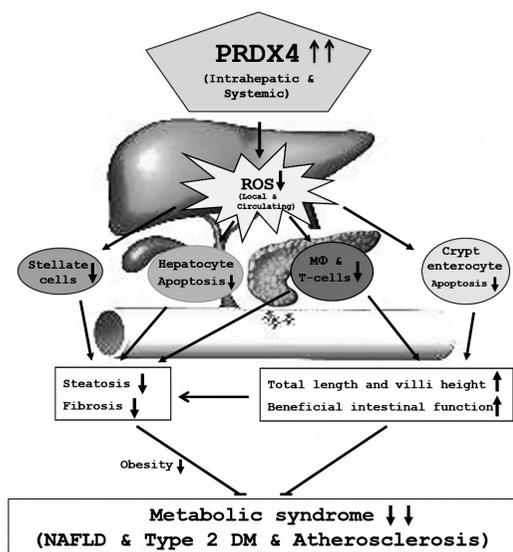


図4 メタボリックシンドロームに対する、PRDX4の生体内保護作用に関する schema

PRDX4が組織中及び血中で高発現することで、局所および循環レベルにおいて、酸化ストレス、ROSが有意に減少する。NASHを含めた病変部 (in vivo) において、肝細胞および陰窩上皮細胞のアポトーシスが抑制され、さらに炎症細胞浸潤、肝星細胞 stellate cell 数も減少する。小腸機能が保護される相乗効果もあいて、最終的に、脂質 (・糖) 代謝の恒常性維持や慢性炎症の抑制により、脂肪沈着・線維化が抑制され、肥満・NAFLD だけでなく2型DMをも表現型とする、メタボリックシンドロームから生体は保護される。

デル<sup>1)</sup>、大腿動脈カフ血管障害モデルの可能性について注目しているところである。ポリエチレン製の極細のチューブに割を入れ、カフとして使用し、右大腿動脈周囲の神経及び静脈と結合織・脂肪組織を綺麗に剥離し、大腿動脈に、looseに当カフを巻きつけ、マウスが動いても外れないように二か所絹糸で外側を締める。まさに理論的には、EC障害を介さない、inside-outと逆のoutside-in signalingを模倣するモデルと言えよう。実際、組織学的に、外膜は異物反応を含む肉芽組織で置換され、血管周囲、血管外側刺激による内膜肥厚は、結紮モデルと同様にSMC様細胞で構成され、求心性狭窄性病変を呈するのだ。この実験系の着想に至ったのは、まさに臨床sideからの働きかけがあつてこそ、大阪大学の平野賢一研究室との共同研究であった。平野らが発表した中性脂肪蓄積心筋血管症 (TGCV) は心臓移植症例より見出された新規疾患であり、心筋細胞や、冠動脈硬化巣 SMC 内に中性脂肪 (TG) の蓄積を認め、心肥大・心不全や不整脈、四肢のミオパチーを引き起こ

すことが報告されている<sup>15,16)</sup>。その中で、TGCVの特異な病理組織像として、冠動脈のびまん性求心性狭窄が報告されており、いわゆる粥状硬化症 (コレステロール rich) の偏心性狭窄とは様相を異にしていることが判っている。この確立された一疾患であるTGCVはAdipose Triglyceride Lipase (ATGL) のloss of function mutation のホモ接合体であることが知られている。そこで、TGCVにおける、このユニークな『動脈硬化』病変に対する、類似した動物モデル (ATGL-KO マウスを用いて) の確立、およびメカニズムの解析を目的として、現在上記カフモデル実験を進行中である。このような切り口から、当研究領域におけるbreak-throughの一助になるべく精進したい。

### 謝辞

本稿で取り上げた研究の一部は、文部科学省科学研究費：若手研究 (B) (代表：24790394)、文部科学省科学研究費：基盤研究 (C) (代表：16K08750)、公益財団法人MSD生命科学財団 研究助成 (代表：2017-生活習慣病領域-)、そして、日本医療研究開発機構 (AMED) 研究費 (分担：難治性疾患実用化研究事業 (平野賢一先生代表))、それぞれから助成を受けたものです。また本研究の一部は、第63回日本病理学会秋期特別総会 (東京、2017) のA演説 (学術研究賞) として口演致しました。

### 文献

- 1) Yamada S, Tanimoto A, Sasaguri Y. *Pathol Int* 66: 661-6715, 2016.
- 2) Yamada S, Wang KY, Tanimoto A, *et al.* *Am J Pathol* 172: 1419-1429, 2008.
- 3) Yamada S, Noguchi H, Tanimoto A. *Histol Histopathol* 32: 433-44, 2017.
- 4) Yamada S, Ding Y, Sasaguri Y. *J UOEH* 34: 27-39, 2012.
- 5) Ross R. *N Engl J Med* 340: 115-126, 1999.
- 6) Yamada S, Wang KY, Tanimoto A, *et al.* *Pathol. Int* 63: 435-447, 2013.
- 7) Yamada S, Wang KY, Tanimoto A, Sasaguri Y. *Pathol. Int* 65: 67-80, 2015.
- 8) Yamada S, Ding Y, Tanimoto A, *et al.* *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31: 1555-1564, 2011.
- 9) Tasaki T, Yamada S, Guo X, *et al.* *Am J Pathol* 182: 597-609, 2013.
- 10) Guo X, Yamada S, Tanimoto A, *et al.* *Antioxid Redox Signal* 17: 1362-1375, 2012.
- 11) Fujii J, Ikeda Y, Kurahashi T, Homma T. *Free Radic Biol Med* 83: 373-379, 2015.
- 12) Ding Y, Yamada S, Wang KY, *et al.* *Antioxid Redox Signal* 13: 1477-1490, 2010.
- 13) Nabeshima A, Yamada S, Guo X, *et al.* *Antioxid Redox Signal* 19: 1983-1998, 2013.
- 14) Nawata A, Noguchi H, Mazaki Y, *et al.* *PLoS One* 11, e0152549, 2016.
- 15) Hirano K, Ikeda Y, Zaima N, *et al.* *N Engl J Med* 359: 2396-2398, 2008.
- 16) Ikeda Y, Hirano KI, Fukushima N, Sawa Y. *Eur Heart J* 35: 875, 2014.