

平成 21 年 3 月 18 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2007-2008
 課題番号：19790293
 研究課題名（和文） 動脈硬化性血栓症の発生機序における ADAMTS13 の機能解析
 研究課題名（英文） Functional analysis of ADAMTS-13 on atherothrombosis
 研究代表者
 山下 篤 (Yamashita Atsushi)
 宮崎大学医学部病理学講座・助教
 研究者番号：90372797

研究成果の概要：

血栓形成に重要な血液因子であるフォンウィルブランド因子の分解酵素 ADAMTS-13 が動脈硬化性血栓に局在すること、動脈硬化性血栓の形成に抑制的に機能していることを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,500,000	0	1,500,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	510,000	3,710,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：疾患モデル動物

1. 研究開始当初の背景

心筋梗塞や脳梗塞に代表される動脈硬化性血栓症は、動脈硬化病巣に血栓が形成されて発症する。予防・治療薬としてこれまで数多くの抗血栓薬が開発されてきたが、出血性合併症が障害となっており、まだ満足できる薬剤は開発されていない。

ADAMTS13 (A Disintegrin And Metalloprotease with Thrombospondin-1 domain 13)は、血液中の酵素で、血栓形成に重要な接着分子であるフォンウィルブランド因子 (VWF) を分解する。しかしながら、ADAMTS13 が血栓形成時に作用するのか、

動脈血栓の形成に影響を与えるのかは不明である。

2. 研究の目的

ADAMTS13 が血栓形成において新たな負の調節因子として機能すること、また出血性副作用の極めて少ない抗血栓薬としての可能性を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1)ヒトの動脈硬化性血栓の病理組織標本を用いて、血小板、フィブリン、ADAMTS-13,

VWF の局在を検討した。

(2)血栓形成をリアルタイムで可視化するフローチャンバーシステムを用いて、ADAMTS-13 がどのような血流条件で、どのように機能するのかを検討した。

(3)家兔動脈硬化性血栓症モデルを用いて、ADAMTS-13 の生体内での機能を検討した。

4. 研究成果

(1)冠動脈血栓において、ADAMTS-13 は血小板や VWF とほぼ一致して局在した(図 1)。

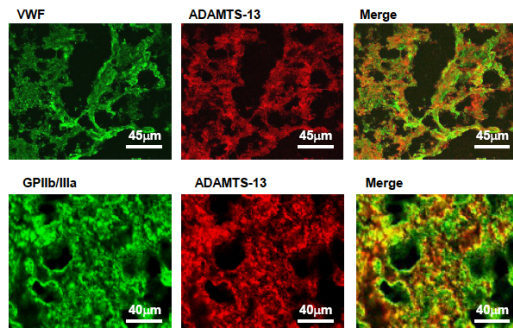


図 1 冠動脈血栓における ADAMTS-13 の局在

(2)フローチャンバーにおいて、ADAMTS-13 の機能阻害抗体 WH2-22-1A の添加により、速い流速下(1500S⁻¹)でのみ血栓形成が促進された(図 2)。

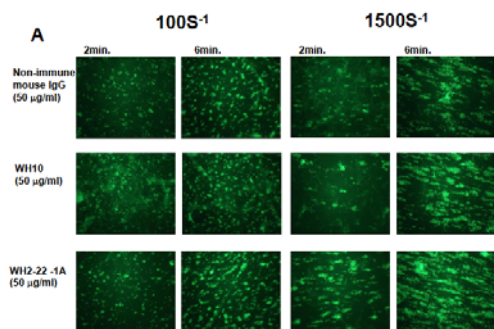


図 2 フローチャンバーにおける血栓形成
コントロール抗体(mouse IgG)、非機能阻害 ADAMTS-13 抗体(WH10)、機能阻害 ADAMTS-13 抗体(WH2-22-1A)

(3)家兔動脈硬化性血栓モデルにおいて、ADAMTS-13 機能阻害抗体 WH2-22-1A の投与に

より、血栓形成が促進された(図 3)。

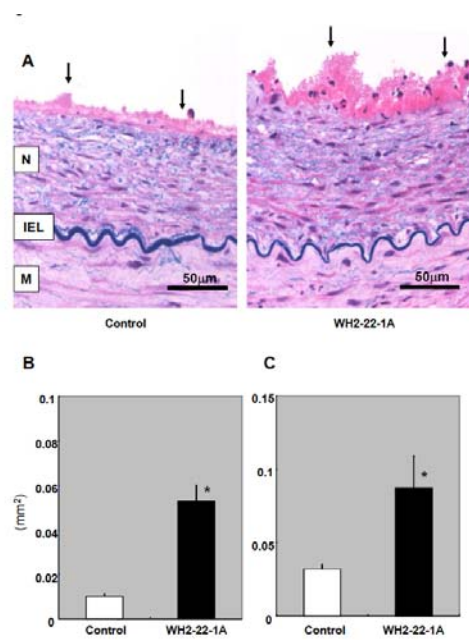


図 3 動脈硬化性血管の傷害 15 後に形成された血栓(矢印)の組織写真(A)、血栓面積(B)、血栓/中膜比(C)。*p<0.01, n=10 per group

(4) 動脈硬化性血栓症における ADAMTS-13 の役割を明らかにした。ADAMTS-13 の抗血栓薬としての可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Moriguchi-Goto S, Yamashita A, Tamura N, Soejima K, Takahashi M, Nakagaki T, Goto S, Asada Y. ADAMTS-13 attenuates thrombus formation on type I collagen surface and disrupted plaques under flow conditions. *Atherosclerosis* (In press)、査読有
- ② Yamashita A, Matsuda S, Matsumoto T, Moriguchi-Goto S, Takahashi M, Sugita C, Sumi T, Imamura T, Shima M, Kitamura K, Asada Y. Thrombin generation by intimal tissue factor contributes to thrombus formation on macrophage-rich neointima but not normal intima of hyperlipidemic rabbits. *Atherosclerosis* (In press)、査読有
- ③ Takahashi M, Yamashita A, Moriguchi-Goto S, Marutsuka K, Sato Y, Yamamoto H, Koshimoto C, Asada Y.

- Crucial Role of von Willebrand Factor and Platelet Interaction in Venous Thromboembolism. *Histol Histopathol* (In press) 、査読有
- ④ Nishihira K, Imamura T, Ishikawa T, Yamashita A, Shibata Y, Itabe H, Kitamura K, Asada Y. Interleukin-10 correlates with oxidized low density lipoprotein in coronary culprit plaques. *Thromb Res.* (In press) 、査読有
- ⑤ Yamashita A, Nishihira K, Tanaka N, Moriguchi-Goto S, Imamura T, Ishida T, Kawashima S, Yamamoto R, Kitamura K, Asada Y. Serotonin induces vasoconstriction of smooth muscle cell-rich neointima through 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor in rabbit femoral arteries. *J Thromb Haemost.* 2008;6:1207-14. 査読有
- ⑥ Tanaka N, Nakamura E, Ohkura M, Kuwabara M, Yamashita A, Onitsuka T, Asada Y, Hisa H, Yamamoto R. Both 5-hydroxytryptamine 5-HT_{2A} and 5-HT_{1B} receptors are involved in the vasoconstrictor response to 5-HT in the human isolated internal thoracic artery. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2008;35:836-40. 査読有
- ⑦ Nishihira K, Yamashita A, Imamura T, Hatakeyama K, Sato Y, Nakamura H, Yodoi J, Ogawa H, Kitamura K, Asada Y. Thioredoxin in coronary culprit lesions: possible relationship to oxidative stress and intraplaque hemorrhage. *Atherosclerosis.* 2008;201:360-7. 査読有
- ⑧ Yamashita A, Shoji K, Tsuruda T, Furukoji E, Takahashi M, Nishihira K, Tamura S, Asada Y. Medial and adventitial macrophages are associated with expansive atherosclerotic remodeling in rabbit femoral artery. *Histol Histopathol.* 2008;23:127-36. 査読有
- ⑨ Furukoji E, Tanaka N, Yamashita A, Matsumoto M, Fujimura Y, Yamamoto R, Tamura S, Asada Y. Ecto-nucleoside triphosphate diphosphohydrolase inhibits ATP- and ADP-induced vasoconstriction. *Thromb Res.* 2008;121:583-5. 査読有
- ⑩ Kawata H, Naya N, Takemoto Y, Uemura S, Nakajima T, Horii M, Takeda Y, Fujimoto S, Yamashita A, Asada Y, Saito Y. Ultrasound accelerates thrombolysis of acutely induced platelet-rich thrombi similar to those in acute myocardial infarction. *Circ J.* 2007;71:1643-8. 査読有
- ⑪ Nishihira K, Imamura T, Hatakeyama K, Yamashita A, Shibata Y, Date H, Manabe I, Nagai R, Kitamura K, Asada Y. Expression of interleukin-18 in coronary plaque obtained by atherectomy from patients with stable and unstable angina. *Thromb Res.* 2007;121:275-9. 査読有
- [学会発表] (計 10 件)
- ① 山下 篤、5-HT による平滑筋細胞に富む動脈硬化巣の収縮：血栓性血管収縮における肥厚内膜の関与、第 31 回日本血栓止血学会、11/20-22, 2008、大阪
- ② 高橋良暎、血液凝固 XI 因子は深部静脈血栓に存在しトロンビン産生を介して血栓の成長に関与する第 31 回日本血栓止血学会、11/20-22, 2008、大阪
- ③ 杉田千泰、ヒト深部静脈血栓における血液凝固 VIII 因子の局在と機能、第 31 回日本血栓止血学会、11/20-22, 2008、大阪
- ④ 山下 篤、高脂血症下における動脈血栓の形成機序—動脈硬化巣と健常動脈での差異、第 97 回日本病理学会総会、5/15-17, 2008、金沢
- ⑤ 山下 篤、動脈硬化性血栓と健常動脈血栓の違い、第 30 回日本血栓止血学会、11/15-17, 2007、志摩市
- ⑥ 山下 篤、動脈血栓における ADAMTS13 の局在と機能、第 18 回九州血管血栓フォーラム、11/3-4, 2007、大分市
- ⑦ Moriguchi-Goto S, ADAMTS-13 within thrombus down-regulates thrombus formation under flow conditions. XXIst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 6-12, 2007, Geneva
- ⑧ Yamashita A, Mechanisms of thrombus formation differ between atherosclerotic and normal arteries in hypercholesterolemic rabbits. XXIst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 6-12, 2007, Geneva
- ⑨ Takahashi M, Platelet is an important factor in venous thromboembolism: Interaction of von Willebrand factor and platelet GPIb promotes venous thrombus growth. XXIst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 6-12, 2007, Geneva
- ⑩ Tamura N, Functional regulation of von Willebrand factor on the formation of platelet thrombi under blood flow condition by its specific cleaving

protease of ADAMTS13. XXIst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 6-12, 2007, Jeneva

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

〔図書〕（計 2 件）

- ① Tanaka, K and Davie EW, Springer, Recent Advances in Thrombosis and Hemostasis 2008, 2008, 614-624
- ② 鈴木宏治、金芳堂、血栓症・動脈硬化モデル動物作成法、2007, 13-21

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山下 篤 (YAMASHITA ATSUSHI)

宮崎大学・医学部病理学講座・助教

研究者番号：90372797