

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：34512

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K08527

研究課題名(和文)血管における糖鎖シグナルの制御を介した動脈硬化症治療の解明

研究課題名(英文) Mechanisms of atherosclerosis onset and progression mediated by vascular wall chondroitin sulfate chain elongation.

研究代表者

八木 敬子 (Yagi, Keiko)

神戸薬科大学・薬学部・研究員

研究者番号：00309436

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：動脈硬化の発症・進展仮説の一つとしてLDL(低密度リポ蛋白)コレステロールの血管壁への貯留に血管壁のコンドロイチン硫酸鎖が関わるとする「貯留反応説」があるが、その詳細は不詳である。今回、糖鎖の長さを調節するChGn-2の遺伝子欠損マウスを用いて動脈硬化モデルを作成・解析した。このマウスでは血中LDLコレステロール値が高いにもかかわらず、動脈硬化症の発症・進展が抑制されていた。そのメカニズムとして、血中LDLコレステロール値が上昇すると血管壁に存在するマクロファージでChGn-2の発現量が増加し、糖鎖が長くなることでLDLコレステロールの細胞内への取り込みが増加することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会を迎えたわが国では健康長寿を達成することが重要であり、そのためには生活の質を落とす原因である脳卒中や心筋梗塞などの動脈硬化性疾患の発症を抑制することが重要である。今回の研究成果は、血管のコンドロイチン硫酸鎖やその長さを調節するChGn-2が動脈硬化症の発症・進展予防のための診断や治療のターゲットになる可能性を示唆するものである。将来的には、高血圧、糖尿病や脂質異常症といった疾患の有無に関わらず、動脈硬化症の発症を予防できる、コンドロイチン硫酸鎖を標的とした治療の確立に向けての研究の発展が期待される。

研究成果の概要(英文)：Chondroitin sulfate proteoglycans are the primary constituents of the macrophage glycosaminoglycan and extracellular microenvironment. To examine their potential role in atherogenesis, we investigated the biological importance of one of the chondroitin sulfate glycosaminoglycan biosynthesis gene, ChGn-2 in macrophage foam cell formation. ChGn-2-deficient mice showed decreased and shortened glycosaminoglycans. ChGn-2-deficient mice generated less atherosclerotic plaque despite exhibiting a metabolic phenotype similar to that of the littermates. In macrophages, ChGn-2 expression was upregulated in the presence of LDL, and glycosaminoglycan was substantially increased. Mechanistically, ChGn-2 enhanced LDL binding on the cell surface, and as a consequence, CD36 was differentially regulated.

研究分野：血管生物学

キーワード：動脈硬化 血管糖鎖 プロテオグリカン コンドロイチン硫酸

1. 研究開始当初の背景

心筋梗塞や脳梗塞などの心・脳血管疾患はいずれも血管のアテローム性動脈硬化性疾患により引き起こされる。アテローム性動脈硬化性疾患は日本人の死亡原因の約 25%を占め、国民にとって重大な脅威であり、その克服に対する社会的ニーズは極めて高い。アテローム性動脈硬化に対する治療法としては、従来、高血圧、糖尿病、脂質代謝異常症などに代表される心血管疾患発症の危険因子をコントロールすることが中心であった。実際にレニン・アンジオテンシン系抑制薬やスタチン製剤によって各危険因子のコントロールが可能となりつつあるが、依然として心血管疾患が増加している事実を踏まえると新たな治療戦略の確立が急務である。

アテローム性動脈硬化の発症・進展機構として、貯留反応説が提唱され注目されている。早期動脈硬化の発症では血管壁における LDL コレステロールなどの脂質の貯留が病態の起点であるとするものであり、最近その貯留には血管内膜のコンドロイチン硫酸鎖の構造、特にその長さが密接に関連していることが示唆された。しかし、これらは観察研究による知見であり、コンドロイチン硫酸鎖の構造の修飾が動脈硬化の病変に及ぼす影響については不明である。

2. 研究の目的

今回、「コンドロイチン硫酸鎖の長さを修飾することで脂質の貯留を減少させ、ひいてはアテローム性動脈硬化症の予防や退縮が可能である」という仮説を構築し、これを検証する研究を計画し、実施した。

3. 研究の方法

コンドロイチン硫酸鎖の伸長を司る ChGn-2 遺伝子欠損マウスを LDL 受容体遺伝子欠損 (LDLR^{-/-}) マウスと交配し、高脂肪高糖食で飼育することにより動脈硬化モデルを作製した。これらのマウスから臓器を摘出し、調製した RNA およびタンパクを用いて解析した。培養細胞として RAW264.7 細胞を使用した。

本研究計画に基づき実施する遺伝子組換え実験は、神戸薬科大学組換え DNA 実験安全委員会の承認を得たものであり、カルタヘナ法に則して神戸薬科大学組換え DNA 実験安全管理規程に基づき、これを遵守して行なった。

また、動物実験は年度毎に更新が必要な学内の動物実験委員会の承認のもと、諸規程に則り動物愛護の精神を持って実施した。

4. 研究成果

ChGn-2 遺伝子欠損 (ChGn-2^{-/-}) マウスを LDL 受容体遺伝子欠損 (LDLR^{-/-}) マウスと交配し、作出されたマウス (ChGn-2^{-/-}; LDLR^{-/-}) に高脂肪食負荷を行い動脈効果病変について解析した。ChGn-2 遺伝子および LDL 受容体遺伝子の両者を欠損したマウスは対照群 (ChGn-2^{+/+}; LDLR^{-/-}) と比較して、体重および総コレステロール値、中性脂肪値などの血中脂質の指標に差はないにもかかわらず動脈硬化病変は有意に進展が抑制されていた (図 1、2)。そのメカニズムをマクロファージに着目して解析したところ、マクロファージを脂質で処理すると ChGn-2 の発現が上昇し、コンドロイチン硫酸鎖が伸長することが明らかとなった。また、ChGn-2 がマクロファージの泡沫化を促進することを示し、そのメカニズムとして ChGn-2 が脂質のマクロファージの細胞表面への結合を促進し、さらにスカベンジャー受容体のひとつである CD36 の発現を亢進することで脂質の取り込みを増大させることを示した。

以上より、ChGn-2 がマクロファージの細胞表面における脂質の結合を増大し、泡沫細胞の形成を促進することによって動脈硬化病変の進展に関与することが示唆された (図 3)。

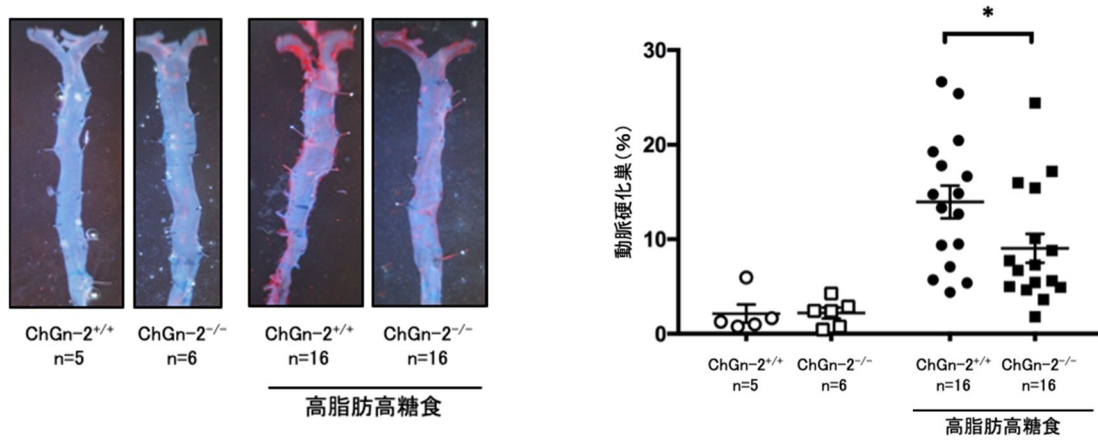


図1 大動脈における動脈硬化性病変の比較

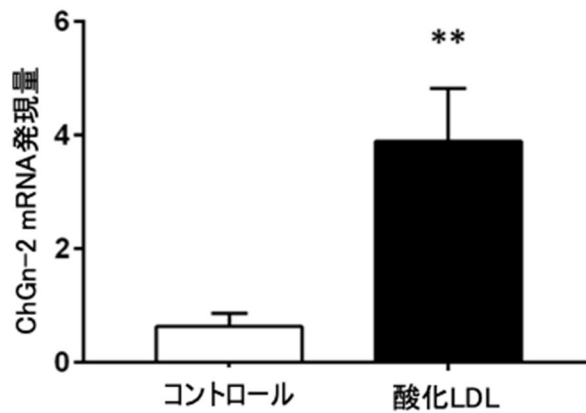


図2 脂質で処理したマクロファージにおける ChGn-2 の発現の増強

5. 今後の展望

上記の研究成果で、ChGn-2 が血管内膜においてコンドロイチン硫酸鎖を伸長することによりマクロファージへの脂質の取り込みを増強し、また PDGF による血管平滑筋の遊走能を増強し、結果として動脈硬化病変を進展させることを示すことができた。

超高齢化社会を迎えた我が国では健康長寿を達成することが非常に大切で、そのためには生活の質を落とす原因である脳卒中や心筋梗塞などの動脈硬化性疾患の発症を抑制することが重要である。今回の一連の研究成果は、血管のコンドロイチン硫酸鎖やその長さを調節する ChGn-2 が動脈硬化症の発症・進展予防のための診断や治療のターゲットになる可能性を示唆している。将来的には、高血圧、糖尿病や脂質異常症といった疾患の有無に関わらず、動脈硬化症の発症を直接予防・退縮できる、コンドロイチン硫酸鎖を標的とした治療の確立に向けての研究の発展が期待される。

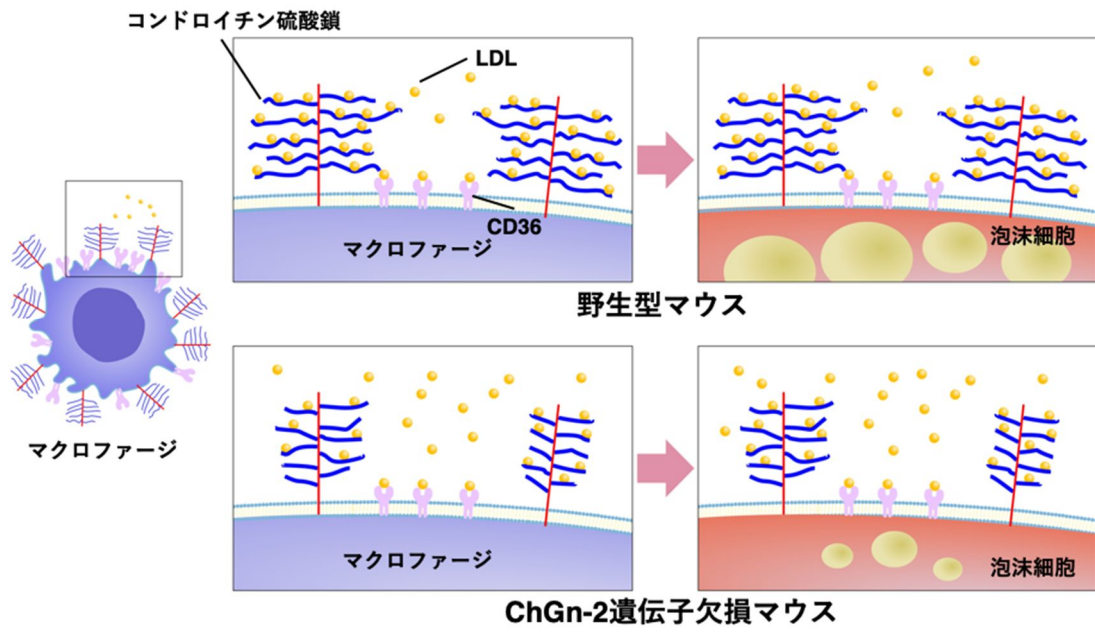


図3 コンドロイチン硫酸鎖による泡沫細胞形成の概念図

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Adhikara IM, Yagi K, Mayasari DS, Suzuki Y, Ikeda K, Ryanto GRT, Sasaki N, Rikitake Y, Nadanaka S, Kitagawa H, Miyata O, Igarashi M, Hirata KI, Emoto N.	4. 巻 41
2. 論文標題 Chondroitin Sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase-2 Impacts Foam Cell Formation and Atherosclerosis by Altering Macrophage Glycosaminoglycan Chain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arterioscler Thromb Vasc Biol.	6. 最初と最後の頁 1076-1091
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/ATVBAHA.120.315789.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究分担者	江本 憲昭 (Emoto Noriaki) (30294218)	神戸薬科大学・薬学部・教授 (34512)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関