

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K16013

研究課題名(和文) 頸動脈粥状硬化巣におけるリンパ管新生/血管新生アンバランスとPCSK9との関連

研究課題名(英文) Association between lymphangiogenesis and angiogenesis imbalance in carotid atherosclerotic lesions and PCSK9

研究代表者

立石 洋平 (Tateishi, Yohei)

長崎大学・病院(医学系)・講師

研究者番号：30412167

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：頸動脈内膜剥離術を施行した4名の患者の頸動脈プラークを病理学的に検討した。新生血管はプラーク形成が軽度の部分と比較し、最もプラークが厚い部分に密に出現していた。リンパ管は、プラーク形成が軽度の部分と強い部分とで、ほぼ同数であった。この傾向は、プラーク全体で評価するよりもプラークの立ち上がり部分でより顕著であった。また、M1型マクロファージはプラークが軽度の部分よりプラークが厚い部分で多く発現していたが、M2型マクロファージはそれぞれのプラークで同等であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究で得られた知見を論文として作成し、現在投稿準備中である。これまで頸動脈プラークのリンパ管形成について検討した研究は少ない。頸動脈プラークの増大には新生血管とリンパ管のアンバランスが関わっている可能性が示唆された。つまり、動脈硬化増大因子を運ぶ新生血管が急激に増加することに、それらの因子を排出するリンパ管形成が追いつかず、プラークが増大、進展する可能性が示唆された。今後の頸動脈動脈硬化進展の治療ターゲットとして、リンパ管を増加させることも検討される。

研究成果の概要(英文)：Neovascularization densely appeared in the severely thickened lesion although those microvessels were sparse in the mildly thickened lesion. Lymphatic vessels equally exist in both the mildly and severely thickened lesions. The area stained with CD 80 in the severely thickened lesion was larger than that in the mildly thickened lesion while the area stained with CD163 was comparable in each lesion.

研究分野：脳神経内科

キーワード：頸動脈プラーク

1. 研究開始当初の背景

頸動脈動脈硬化病変における血管新生はよく知られた病態であるが、リンパ管新生については不明な部分が多かった。実験的なリンパうっ滞は動脈硬化の初期段階にみられるような内膜肥厚を引き起こす。リンパ管は単球系細胞やリンパ球のリンパ節への遊出を担っていることから、リンパ管はプラーク増生を抑制する働きがあると考えられている。つまり、リンパ管系のシステムの障害はプラーク形成や慢性炎症を助長している可能性が指摘されていた。動脈硬化薬でのリンパ管新生は外膜側に出現することが多いことが報告されている。しかしながら、いつ、どのようにリンパ管がプラーク内に形成されているかは明確にはわかっていない。

新生血管は、プラーク内の低酸素状態を誘引として血管外膜周囲の vasa vasorum から発生し、プラーク内に侵入する。低酸素状態により誘導される Hypoxia induced factor (HIF-1) は M1 型マクロファージから産生され、プラーク内の炎症やリモデリングに関与していることが示唆されている。一方、M2 型マクロファージは抗炎症に作用すると言われている。頸動脈プラーク内での M1 および M2 型マクロファージの発生や分布などについての情報は限られている。

Pro-protein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) は low density lipoprotein (LDL) 受容体に結合し、リソソームに送り込み、エンドサイトーシスにより分解される。PCSK9 の活性が高まると LDL 受容体の分解が促進され、結果的に高 LDL コレステロール血症になる。その PCSK9 は動脈硬化病変の形成・進展に影響を与えることが注目されるようになった。PCSK9 は動脈硬化病変の平滑筋細胞から分泌され、平滑筋細胞の増殖、泡沫細胞の形成、活性化血小板の凝集に関与していることが示唆されている。また、PCSK9 はリンパ管系システムへの関与が示唆されている。PCSK9 ノックアウトマウスでは集合リンパ管が発達してリンパ管機能が亢進している。

2. 研究の目的

頸動脈内膜剥離術で得られた病理標本を用いて頸動脈動脈硬化病変におけるリンパ管新生と血管新生のアンバランスを検討する。M1 および M2 型マクロファージの染色も行い、血管新生やリンパ管新生に関与している可能性を探索する。さらに、組織における PCSK9 の発現や関与を解析する。

3. 研究の方法

頸動脈狭窄病変が原因のアテローム血栓性脳梗塞を発症し、当院に入院した患者で、頸動脈内膜剥離術を施行した 4 名の患者の頸動脈プラークを病理学的に検討した。患者背景や頸動脈プラーク MRI 所見などの臨床データを Hematoxylin and eosin (H&E) 染色を行い、追加で以下の免疫染色を行った (CD31: 血管内皮細胞; D2-40: リンパ管; CD68; マクロファージ; CD80: M1 型マクロファージ; CD163: M2 型マクロファージ)。デジタルフォトグラフをソフトウェア Image J version 1.53a で解析した。CD31 と D2-40 で染色された管腔構造物を、最もプラークが厚い部分と軽度のプラークが形成されている部分で数えた。最もプラークが厚い部分では断面全体とプラークの立ち上がり部分 (プラークショルダー) でも CD31、D2-40 それぞれで染まる管腔構造物の数をカウントした。CD68, CD80, CD163 で染まる面積をソフトウェアで計算し、全体の面積に占める割合を導き出した。対応のある t 検定により、新生血管の数、リンパ管の数、M1 型・M2 型マクロファージを最もプラークが厚い部分と軽度プラークの部分で比較した。

4. 研究成果

新生血管は最もプラークが厚い部分に多く検出されていた (中央値; 31 vs. 2 vessel, $p=0.012$)。リンパ管の出現はプラークが最も厚い部分と軽度の部分で差はなかった (中央値; 29 vs. 28 vessels, $p=0.966$)。プラークショルダーでも同様の傾向であった (新生血管: 中央値; 22 vs. 2 vessels, $p=0.039$ and リンパ管: 中央値; 16 vs. 16; $p=0.961$)。厚いプラークと軽度のプラーク断面におけるそれぞれの免疫染色で染色された部分の面積は CD68 (中央値; 3.27 vs. 1.96 %, $p=0.053$)、CD80 (中央値; 0.36 vs. 0.08 %, $p=0.013$)、CD163 (中央値; 1.30 vs. 0.24 %, $p=0.070$) 全てにおいて、厚いプラークで染色される部分が広がった。CD31 染色される部分と CD80 および CD163 で染色される部分は肉眼的に重なり合っているようであった。

以上より、プラークが厚い部分では新生血管とリンパ管のアンバランスが生じている可能性がある。リンパ管のドレナージ効果が新生血管により増生に追いつかない可能性がプラ

ーク増大や不安定性につながっているのかもしれない。また、新生血管の増生には HIF-1 を産生する M1 型マクロファージが関わっている可能性があるが、M2 型マクロファージもプラークが厚い部分で多く観察された。今回の研究で、原因は分からなかったが、M2 型マクロファージもプラーク増生に関わっている可能性はあるのかもしれない。PCSK9 との関連について、病理学的検討を行うことはできなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------