

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591693

研究課題名 (和文) 頸部頸動脈狭窄症におけるプラーク内出血の分子機構に関する研究

研究課題名 (英文) Molecular mechanism of intraplaque hemorrhage in carotid stenosis

研究代表者：山本 勇夫 (YAMAMOTO ISAO)

横浜市立大学・医学研究科・客員教授

研究者番号：30158266

研究成果の概要：頸部頸動脈プラークにおける血管新生に関わる蛋白発現を解析すると頸部頸動脈プラーク内におけるVEGFは、大部分macrophage由来の泡沫細胞に発現しており、その誘導因子の一つとしてHIF-1 α が示唆され、またEts-1もHIF-1 α 、VEGFによって制御されている可能性が示唆された。Macrophageは酸化LDLを取り込んでecholucentな不安定プラークの形成に関与しており、プラーク内出血はVEGFとその上流・下流の因子が直接・間接的に関与していることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：頸動脈狭窄症、動脈硬化、VEGF、HIF、Ets-1、プラーク内出血、脳梗塞

1. 研究開始当初の背景

近年、食生活の欧米化に伴い、本邦でも頸動脈狭窄症が増加し、これによる脳梗塞もしばしばみられるようになってきた。頸部頸動脈狭窄症は、動脈硬化に伴って血管内壁にプラークが肥厚することによってできるが、プラークの進展にはプラーク内出血が関わっていることが示唆されてきた。

2. 研究の目的

頸部頸動脈狭窄性病変におけるプラーク内出血の役割および分子機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

頸動脈内膜剥離術(CEA)の際に得られた内膜剥離標本40例を対象とした。ホルマリン固定標本あるいは凍結切片を、VEGF、HIF-1 α 、

Ets-1, CD34, VEGF-Receptor(Flit-1), SMC, Macrophage(CD68)に対する各種抗体を用いた蛍光免疫染色、Western blot法にて評価し、症候性プラークと無症候性プラークとの関係、頸動脈の狭窄度・プラーク内出血・潰瘍形成との関連について検討した。

4. 研究成果

VEGF の発現は、粥状硬化巣内の泡沫細胞に強く発現し、大部分は macrophage で一部は SMC 由来であった。VEGF の発現する foam cell は、plaque core には少なく、fibrous cap、plaque shoulder に多く存在し、しかも剥離内膜深層でプラーク内出血の周囲に特に多く認められた。Flit-1 の発現は、ほぼ VEGF の発現と一致していた。また、ETS-1、HIF-1 α は plaque 深部のプラーク内出血周囲に発現を認め、その発現はほぼ VEGF に一致していた。血管のマーカである CD34 は、plaque 内の新生血管に一致して認められた。

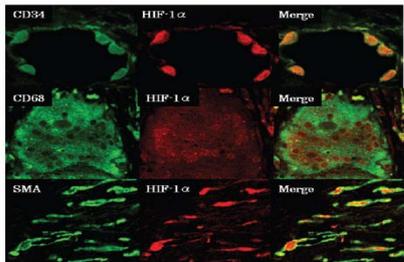


図 1. 頸動脈プラークにおける CD34, CD68, SMA と HIF-1 α の発現。プラーク内の血管内皮細胞は、CD34, と HIF-1 α が同時に陽性。プラーク内の肥満細胞は CD68 と HIF-1 α が同時に陽性。プラーク内の平滑筋細胞は SMA と HIF-1 α が同時に陽性であった。

頸部頸動脈の粥状硬化巣内における VEGF は、大部分 macrophage 由来の泡沫細胞に発現しており、その誘導因子の一つとして HIF-1 α が示唆され、また Ets-1 も HIF-1 α , VEGF によって制御されている可能性が示唆された。

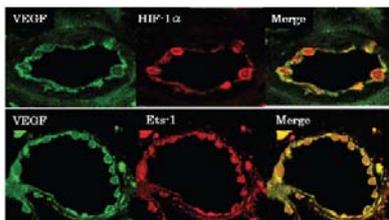


図 2. プラーク内の新生血管の内皮細胞における蛋白発現。内皮細胞は、VEGF, HIF-1 α , Ets-1 が同時に陽性であった。

Macrophage は酸化 LDL を取り込んで echolucent な不安定プラークの形成に関与しており、プラーク内出血は低酸素下で発現誘導される VEGF とその上流・下流の因子が直接・間接的に関与していることが示唆された

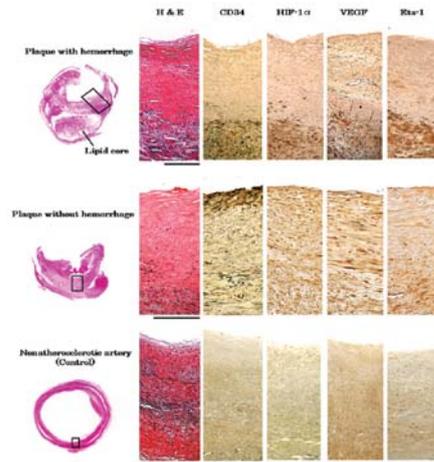


図 3. 頸動脈プラークにおける CD34, HIF-1 α , VEGF, Ets-1 の発現。上、出血を伴うプラークのショルダー部分における発現。中、出血を伴わないプラークにおける発現。下、正常の頸動脈における発現。頸動脈プラークのショルダーにおいて、最も CD34, HIF-1 α , VEGF, Ets-1 の発現して細胞が多数認められた。

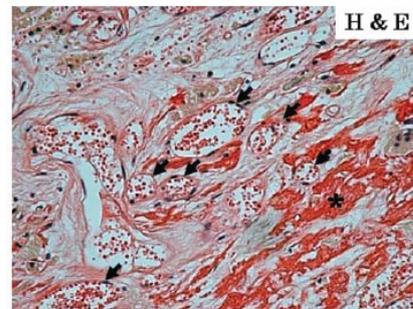


図 4. プラーク内に認められた新生血管 (矢印) プラーク内には多数の新生血管が認められた。

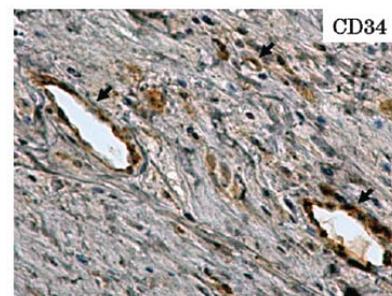


図 5. 頸動脈プラーク内における CD34 陽性の血管内皮細胞。

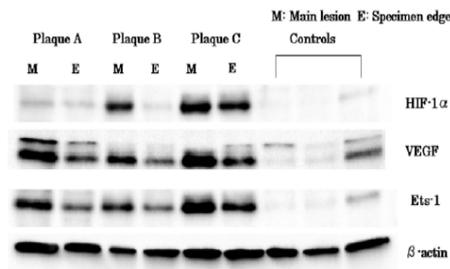


図 6. 頸動脈プラークにおける VEGF, HIF-1α, Ets-1 の発現 (Western blot 解析)。プラークの辺縁に比べて主病変において、VEGF, HIF-1α, Ets-1 の発現がより強く認められた。

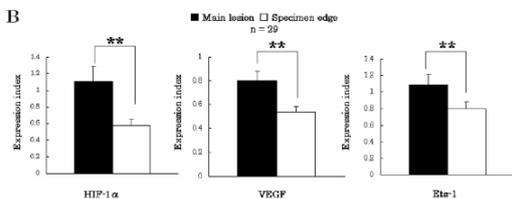


図 7. 頸動脈プラークにおける VEGF, HIF-1α, Ets-1 の発現の比較。いずれの蛋白も有意にプラークの主病変の方が高い発現を認めた。

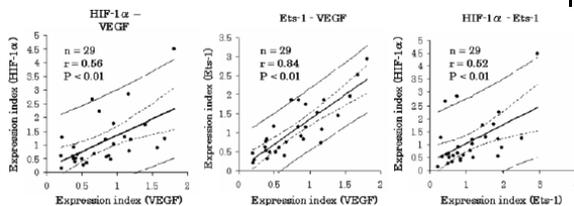


図 8. 頸動脈プラークにおける VEGF, HIF-1α, Ets-1 の3者の発現の相関。いずれの2者においても、発現に相関が認められた。

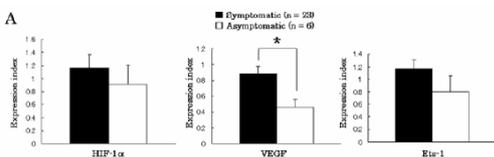


図 9. 症候性プラークと無症候性プラークにおける VEGF, HIF-1α, Ets-1 における発現比較。VEGF では症候性プラークの方が高い発現を認めた。

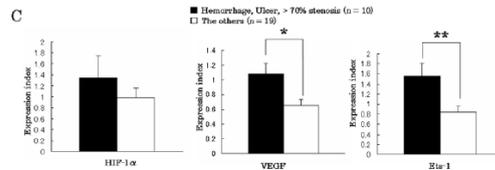


図 10. 内出血、潰瘍形成、70%以上の狭窄を伴った頸動脈プラークとそれ以外のプラークとの比較。VEGF, Ets-1 の発現において、内出血、潰瘍形成、70%以上の狭窄を伴った頸動脈プラークの方がより高い発現を認めた。

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 1 件)

Higashida T, Kanno H, Nakano M, Funakoshi K, Yamamoto I: Expression of hypoxia-inducible angiogenic proteins (HIF-1α, VEGF, Ets-1) and plaque hemorrhage in human carotid atherosclerosis. J Neurosurgery 109:83-91, 2008.

〔学会発表〕(計 1 件)

山本勇夫: 頸動脈手術における抗血小板薬・抗凝固剤使用のピットホール、第7回 Kanagawa Ischemic Stroke Symposium. 横浜, 2007

〔図書〕(計 1 件)

菅野 洋: 脳血管疾患、血管内皮細胞をめぐる疾患 島田和幸編 真興交易(株)医書出版部(東京), pp157-168, 2007

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本勇夫 (YAMAMOTO ISAO)
横浜市立大学・医学研究科・客員教授
研究者番号: 30158266

(2) 研究分担者

菅野 洋 (KANNO HIROSHI)
横浜市立大学・医学部・准教授
研究者番号: 40244496

(3)連携研究者
なし