

論文内容要旨

論文題目

Atrial Endothelial Impairment Through Toll-Like Receptor-4

Signaling may Cause Atrial Thrombogenesis

(Toll様受容体4のシグナルを介した心房内皮障害が心房内血栓形成を引き起こす)

責任講座： 内科学第一講座

氏名： 加藤重彦

【内容要旨】(1,200字以内)

【背景】

脳梗塞の危険因子として、上室性不整脈特に心房細動、高血圧、脳虚血の既往、糖尿病、冠動脈疾患、うっ血性心不全が報告されている。

更に全脳梗塞中、約20-30%が心原性と考えられる。心原性脳梗塞の原因として、持続性心房細動が70%、発作性心房細動が19%、残り11%が非心房細動例であると報告された。そのため心房細動の予防、心房細動による血栓形成の予防が脳梗塞発症抑制に非常に重要である。

血栓形成には、①血管内皮障害、②血流停滞、③凝固能亢進が関与している。近年、心房には血管内皮に非常に類似した心房内皮が存在し、心房内皮を介した炎症が血栓形成に関与することが報告された。また、Toll様受容体(TLR)4の内因性リガンドであるHSP60の発現が、心房細動群の心房組織において亢進することが報告された。しかし、そのメカニズムは未だ不明である。

そこで今回我々は、自然免疫を司るTLR4のシグナルが心房内皮障害を引き起こし、その結果心房内血栓形成に至るという仮説をたて、研究を行った。

【方法・結果】

ヒト検体を用いた実験として、当院で心臓手術を受けた患者の、手術時に得られた右心房の検体を用いてウェスタンブロットを行い検討した。手術時の調律により洞調律群13例と心房細動群14例の2群に分類した。心房細動群の心房筋において、炎症性接着因子であるVCAM-1の発現が増加しており、TLR4、HSP60の発現も増加していた($p < 0.05$, 各々)。

次に、動物実験として8-12週齢のC57BL/6の野生型(WT)マウスとTLR4欠損(KO)マウスに大動脈縮窄術(TAC)を行い検討した。TAC4週後、両群間で心機能に差を認めなかったが、KOマウスではWTマウスと比較し、心房内血栓形成の頻度が少なかった [WT-TAC: 16/20 (80%) vs. TLR-4KO-TAC: 4/15 (27%), $p < 0.001$]。KOマウスでは、WTマウスと比較してVCAM-1、PAI-1の発現亢進と血管内皮機能を反映するeNOSリン酸化の抑制が減弱していた($p < 0.05$, 各々)。更にKOマウスでは、p38リン酸化が抑制されていた ($p < 0.05$)。他のmitogen-activated protein kinase familyである、ERK及びJNKには差を認めなかった。また、ゲルシフトアッセイでは、WTマウスと比較してKOマウスでNF κ B活性が抑制されていた。

【結論】

TLR-4/p38, NF κ B経路が心房内皮障害による心房内血栓形成に関与していると考えられた。

平成 22 年 1 月 27 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 加藤 重彦

論文題目： Atrial Endothelial Impairment Through Toll-like Receptor-4 Signaling may Cause Atrial Thrombogenesis

審査委員： 主審査委員

石井 邦明



副審査委員

本郷 誠治



副審査委員

佐藤 恒哉



審査終了日：平成 22 年 1 月 25 日

【 論文審査結果要旨 】

心原性脳梗塞の原因としては、90%近くが心房細動であると報告されている。そのため、心房細動の予防および心房細動に伴う血栓形成の予防は脳梗塞の発症抑制にとって非常に重要である。近年、心房内皮を介した炎症が血栓形成に関与することが報告された。また、心房細動患者の右心房において heat shock protein (HSP) 60 の発現が増加していることが報告された。しかし、HSP60 が心房内皮障害に関与するかどうかは不明である。これらの背景をもとに、加藤重彦君は HSP60 の内因性リガンドである Toll 様受容体 (TLR)4 のシグナルが心房内皮障害をひき起こし心房内血栓形成にいたるといふ仮説をたて、研究を行った。

本研究は、①心臓手術時に得られたヒト右心房検体を用いた実験と② TLR4 ノックアウト (KO)マウスを用いた実験からなっており、結果は以下の通りである。①ヒト右心房検体を用いて免疫組織学的方法ならびにウェスタンブロット法によって検討したところ、心房細動群において TLR4、HSP60 の発現が増加しており、さらに炎症性接着因子である VCAM-1 の発現も増加していた。また、内皮機能を反映するリン酸化 eNOS の発現は心房細動群において低下していた。② TLR4-KO マウスと野生型 (WT)マウスに大動脈縮窄術 (TAC)を施し、4 週後に検討を行ったところ、TAC の施行に伴い、WT マウスの 20 例中 16 例に血栓形成が見られたのに対し、KO マウスでは 15 例中 4 例に血栓形成が確認されたのみであり、血栓形成の頻度は KO マウスで有意に低かった。また、TAC により両群の心房において VCAM-1 および PAI-1 の発現が増大し炎症の関与が示唆されたが、その程度は KO マウスの方が有意に小さかった。一方、TAC による両群の心房でのリン酸化 eNOS 発現の低下は KO マウスにおいてその程度が有意に小さく、KO マウスで内皮機能の障害がより軽度であると思われた。さらに、TAC によって両群で ERK、JNK、p38 のリン酸化の増大がみられたが、WT と KO で差が認められたのは p38 のみであり、p38 リン酸化の亢進が KO マウスで有意に減弱していた。また、ゲルシフトアッセイによって KO マウスで NFκB 活性の抑制が認められた。以上の結果より、TLR4 の活性化が P38、NFκB 経路を介して心房内皮障害を惹起し、心房内の血栓形成が起るものと考えられた。

本研究は、心房内血栓形成に TLR4 の活性化が関与していることを明らかにしたものであり、心房細動患者の心房における HSP60 発現の増加と心房内血栓の形成とをつなぐ臨床的にも意義深いものである。仮説の検証における研究計画の立て方ならびに結果の解釈も適切である。よって、本審査会は本研究が学位に値するものと判定した。

(1, 200 字以内)