

血管内皮細胞におけるインターロイキン-6 による単球遊走因子 (MCP-1) 発現は小児においても動脈硬化を促進させるか

分担研究者 城ヶ崎倫久 鹿児島医療センター

研究要旨

最近では、動脈硬化は一種の炎症性疾患と考えられている。単球遊走因子 (MCP-1) は動脈硬化で活性化されており、動脈硬化の促進因子として重要な役目をはたしている。今回の研究では、ヒト大動脈血管内皮細胞から分泌される単球遊走因子-1 (MCP-1) がインターロイキン-6 の添加によってどのような影響を受けるかを検討した。インターロイキン-6 は、時間依存性および濃度依存性にヒト大動脈血管内皮細胞において MCP-1 の遺伝子および蛋白分泌を亢進させた。また、インターロイキン-6 は MCP-1 を介して単球遊走能を亢進させることが分かった。このメカニズムとして JAK/STAT 系が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、動脈硬化性疾患による日本国民の死亡率は年々増加傾向にあり、その対策が必要である。動脈硬化は一種の炎症性疾患と考えられており、炎症性サイトカインがその病態生理に果たす役割は大きい。単球遊走因子 (MCP-1) は動脈硬化を促進させる炎症性サイトカインであり、動脈硬化病巣でも活性化されており、動脈硬化促進の主要な因子として重要である。今回の研究は、インターロイキン-6 による炎症によって血管内皮細胞に MCP-1 が発現する機序を調べることである。

B. 研究方法

(対象) ヒト大動脈血管内皮細胞

ヒト大動脈血管内皮細胞から分泌される単球遊走因子-1 (MCP-1) がインターロイキン-6 の添加 (10^{-12} mol/L ~ 10^{-9} mol/L) によってどのような影響を受けるかを分子生物学的手法、ELISA およびケモタキシスチャンバーを用いて検討し、そのメカニズムを明らかにすることである。

1. 大動脈血管内皮細胞にインターロイキン-6 (10^{-9} mol/L) を添加して 1、2、4、8、12、24 時間培養し、MCP-1 の発現を調べる (Time-Dependency)。
2. 大動脈血管内皮細胞にインターロイキン-6 (10^{-12} mol/L - 10^{-8} mol/L) を添加して培養し、MCP-1 の発現を調べる

(Dose-Dependency)。

3. MCP-1 の遺伝子の発現は、MCP-1 の Probe を用いた Ribonuclease Protection Assay を用いて解析する (RPA III kit, Ambion)。
4. 細胞から分泌される MCP-1 蛋白は、Enzyme-linked Immunosorbent Assay 法によって検出する (Quantikine, R&D Systems)。
5. 大動脈血管内皮細胞をインターロイキン-6 (10^{-12} mol/L - 10^{-8} mol/L) と共に培養した上清によって、単球系細胞である THP-1 細胞を遊走させるかを顕微鏡下に観察し、インターロイキン-6 が機能的にも細胞遊走能を亢進させるかを検討する。
6. インターロイキン-6 による MCP-1 の発現亢進効果がインターロイキン-6 の soluble receptor の添加によって変化するかを調べる。

C. 研究結果

大動脈血管内皮細胞にインターロイキン-6 (10^{-9} mol/L) を添加することにより、時間依存性および濃度依存性に MCP-1 の遺伝子および蛋白分泌が上昇した。MCP-1 の蛋白分泌はインターロイキン-6 の soluble receptor (R) の添加によって増幅された。また、JAK inhibitor である AG490 や JAK3 inhibitor II の添加により上昇していた MCP-1 の蛋白分泌は抑制された (図 1)。インターロイキン-6 が機能的にも単球系細胞である THP-1 細胞を遊走させ、その細胞遊走

能はインターロイキン-6の soluble receptor (R) の添加によって増幅された。また、インターロイキン-6の THP-1 細胞遊走能亢進は、抗 MCP-1 抗体の添加によって減弱し、免疫グロブリン自身は何の効果もなかったため、インターロイキン-6は MCP-1 を介して単球遊走能を亢進させることが分かった (図 2)。

D. 考察

動脈硬化症の臨床においては、Adipocytokine とインターロイキン-6は負の相関をすることが分かっている。つまりメタボリック症候群において善玉の Adipocytokine が減少するとインターロイキン-6が上昇し、動脈硬化に拍車をかけるわけである。今回の研究において血管内皮細胞はインターロイキン-6に反応して MCP-1 を合成・分泌しており、その機序として JAK/STAT 系が重要な役割を果たしていることが分かった。このことは小児のメタボリック症候群においても成人と同様の機序により動脈硬化が進展する可能性を示唆している。現在、肥満を有する小児は増加しており、社会的な問題となっているが、炎症を基盤とする動脈硬化は小児においても着実に進み壮年期に急性冠症候群を引き起こす可能性がある。そのためにも、肥満を防ぐ食事療法、運動療法、また、スタチンを中心とした抗高脂血症療法が必要である。

E. 結論 (文献)

インターロイキン-6は、ヒト大動脈血管内皮細胞において MCP-1 の遺伝子および蛋白分泌を亢進させ、単球遊走能を亢進させた。

F. 研究発表

1. Yoshinaga M, Sameshima K, Jougasaki M, Yoshikawa H, Tanaka Y, Hashiguchi J, Tahara H, Ichiki T, Shimizu S, Nakamura K. Emergence of cardiovascular risk factors from mild obesity in Japanese elementary school children. **Diabetes Care** 2006, 29:1408-10
2. Jougasaki M. Adrenomedullin as a renal peptide. **Handbook of Biologically Active Peptides** 2006, 1257-1261 (edited by A. J. Kastin)
3. Jougasaki M, Ichiki T, Setoguchi M, Minagoe S, Nakamura K. Statins Suppress Interleukin-6-Induced Monocyte Chemoattractant Protein-1 via Inhibiting JAK/STAT System in Human Vascular Endothelial Cells. (in submission)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

(以下に表、グラフ等を記載してください。)

図 1

* $P < 0.05$ vs. untreated. # $P < 0.05$ vs. IL-6/R.

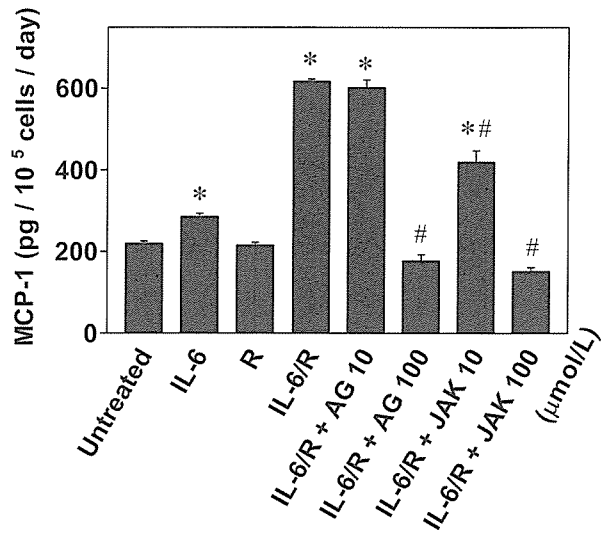
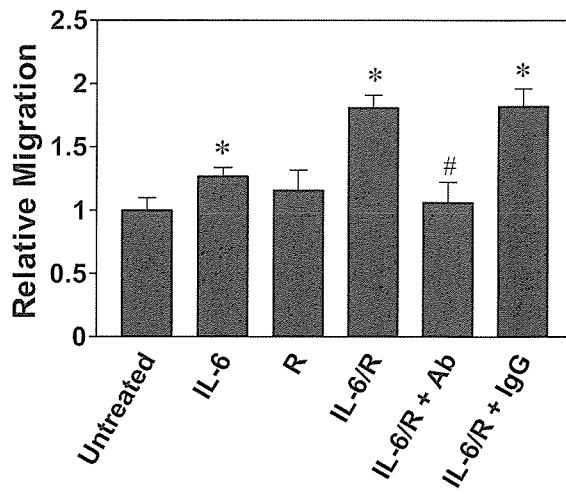


図 2

* $P < 0.05$ vs. untreated. # $P < 0.05$ vs. IL-6/R



研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Jougasaki M	Adrenomedullin as a renal peptide.	A. J. Kastin	Handbook of Biologically Active Peptides	ELSEVIER	Burlington	2006	1257-1261

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tanaka Y, <u>Yoshinaga M</u> , Anan R, Tanaka Y, Nomura Y, Oku S, Nishi S, Kawano Y, Tei C, Arima K.	Usefulness and cost effectiveness of cardiovascular screening in young adolescents	Med. Sci. Sports Exerc	Jan38(1)	2-6	2006
Yoshikawa H, Nomura Y, Masuda K, Hazeki D, Yotsumoto K, Arata M, Kamenosono A, Yanagi S, <u>Yoshinaga M</u> , Kawano Y.	Four cases of Kawasaki syndrome complicated with myocarditis	Circ J	Feb70(2)	202-205	2006
Maruyama S, Nomura Y, Fukushige T, Eguchi T, Nishi J, <u>Yoshinaga M</u> , Kawano Y.	Suspected takotsubo cardiomyopathy caused by withdrawal of buprenorphine in a child	Circ J	Apr70(4)	509-11	2006
<u>Yoshinaga M</u> , Sameshima K, <u>Jougasaki M</u> , Yoshikawa H, Tanaka Y, Hashiguchi J, Tahara H, Ichiki T, Shimizu S, Nakamura K.	Emergence of cardiovascular risk factors from mild obesity in Japanese elementary school children	Diabetes Care	Jun29(6)	1408-1410	2006
Haruna Y, Kobori A, Makiyama T, Yoshida H, Doi T, Tsuji K, Ono S, Shinizu W, Inoue T, Murakami T, Tsuboi N, Yamanouchi H, Ushinohama H, Nakamura Y, <u>Yoshinaga M</u> , <u>Horigome H</u> , Aizawa Y, Kita T, Horie M.	Genotype-phenotype correlation of KCNJ2 mutations in Japanese patients with Anderson-Tawil Syndrome	Hum Mutat	Feb28(2)	208	2007
Ishiwada N, Niwa K, Tateno S, <u>Yoshinaga M</u> , Terai M, Nakazawa M.	Pneumococcal endocarditis in children: a nationwide survey in Japan [Epub ahead of print]	Int J Cardiol.	Mar 22		2007
Baba R, Koketsu M, Nagashima M, Inasaka H, <u>Yoshinaga M</u> , Yokota M.	Adolescent obesity adversely affects blood pressure and resting heart rate (in press)	Circ J			2007
Murakami T, <u>Horigome H</u> , Tanaka K, Nakata Y, Katayama Y, Matsui A	Effects of diet with or without exercise on leptin and anticoagulation proteins levels in obesity (in press)	BloodCoagul Fibrinolysis			2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Haruna Y, Kobori A, Makiyama T, Yoshida H, Doi T, Tsuji K, Ono S, Shinizu W, Inoue T, Murakami T, Tsuboi N, <u>Yamanouchi H</u> , Ushinohama H, Nakamura Y, <u>Yoshinaga M</u> , <u>Horigome H</u> , Aizawa Y, Kita T, Horie M.	Genotype-phenotype correlation of <i>KCNJ2</i> mutations in Japanese patients with Anderson-Tawil Syndrome.	Hum Mutat	Feb28(2)	208	2007
Murakami T, <u>Horigome H</u> , Tanaka K, Nakata Y, Ohkawara K, Katayama Y, Matsui A.	Impact of weight reduction on production of platelet-derived microparticles and fibrinolytic parameters in obesity	Thromb Res	119(1)	45-53	2007
Katayama Y, <u>Horigome H</u> , Murakami T, Takahashi-Igari M, Miyata D, Tanaka K.	Evaluation of blood rheology in patients with cyanotic congenital heart disease using a microchannel array flow analyzer	ClinHemorheol Microcirc	35(4)	499-508	2006
<u>Horigome H</u> , Iwasaki N, Anno I, Kurachi S, Kurachi K	Magnetic resonance imaging of the brain and hematologic profile in adult cyanotic heart disease without stroke	Heart	92(2)	263-5	2006
<u>Horigome H</u> , Ogata K, Kandori A, Miyashita T, Takahashi-Igari M, Chen Y, Hamada H, Tsukada K	Standardization of the PQRST waveform and analysis of arrhythmias in the fetus using vector magnetocardiography	Pediatr Res	59(1)	121-125	2006
Kanemoto N, <u>Horigome H</u> , Nakayama J, Ichida F, Xing Y, Buonadonna AL, Kanemoto K, Gentile M.	Interstitial 1q43-q43 deletion with left ventricular noncompaction myocardium	Eur J Med Genet	49(3)	247-253	2006
Ikeeda A, Hiramatsu Y, <u>Horigome H</u> , Hori T, Noma M, Sakakibara Y.	A pitfall in ligation of intrahepatic shunting after Fontan type operation	AsianThorac Cardiovasc Annals	14(1)	6-8	2006
Hiramatsu Y, Noma M, <u>Horigome H</u> , Takahashi-Igari M, Sakakibara Y.	Biventricular repair of Ebstein's anomaly with pulmonary atresia in a low birth weight neonate	J Card Surg	21(4)	421-2	2006
Sato M, Hiramatsu Y, Noma M, Takahashi-Igari M, <u>Horigome H</u> , Sakakibara Y.	Replacement of the common atrioventricular valve with floating annuloplasty in a patient with univentricular physiology	Jpn J Thorac Cardiovasc Surg	54(2)	85-7	2006
Kinoshita T, <u>Hanaki K</u> , Nagaishi J, Kawashima Y, Adachi K, Nanba E, Kanzaki S.	Variation analysis of β 3-adrenergic receptor and melanocortin-4 receptor genes in childhood obesity. (in press).	Pediatrics International			
Adachi M, Asakura Y, <u>Hanaki K</u> , et al.	PORR457H is a global founder mutation causing Antley-Bixler syndrome with autosomal recessive trait	Am J Med Genet	140A(6)	633-635	2006
Hashimoto N, Kawasaki T, Kikuchi T, <u>Uchiyama M</u> .	Criteria of normal blood pressure and hypertension in Japanese preschool children	J Hum Hypertens	11	351-4	1997

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Yoshinaga M</u> , Sameshima K, <u>Jougasaki M</u> , Yoshikawa H, Tanaka Y, Hashiguchi J, Tahara H, Ichiki T, Shimizu S, Nakamura K.	Emergence of cardiovascular risk factors from mild obesity in Japanese elementary school children	Diabetes Care	29	1408-10	2006
<u>Jougasaki M</u> , Ichiki T, Setoguchi M, Minagoe S, Nakamura K	Statins Suppress Interleukin- 6-Induced Monocyte Chemoattractant Protein-1 via Inhibiting JAK/STAT System in Human Vascular Endothelial Cells. (in submission)				
菊池透、内山 聖.	小児生活習慣病と運動3、高血圧	臨床スポーツ医学	23	647-652	2006
内山 聖, 菊池透, 長崎啓祐, 朴 直樹.	メタボリックシンドロームと周辺疾患 高血圧	小児内科	38	1577-1580	2006
内山 聖	治療小児高血圧	日本臨床	第64巻 増刊号6 高血圧 (第3版) 下巻	353-356	2006
内山 聖	血圧異常	小児内科	38	612-613	2006