

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患実用化研究事業）  
分担研究報告書

ATGL 欠損マウスを用いた血管障害カフモデルの研究

研究分担者 山田壮亮 産業医科大学第二病理学 講師

研究要旨

ATGL 欠損による脂質代謝異常が動脈硬化を促進させるメカニズム、ひいては中性脂肪蓄積心筋血管症 (triglyceride deposit cardiomyovasculopathy: TGCV)の表現形の一つである求心性内膜肥厚の病態メカニズムを解明することを目的とする。ATGL 欠損マウスを用いて、血管障害モデルの一つであるカフモデルを施行した。ATGL 欠損による脂質（特に中性脂肪）代謝異常は、当モデルにおける外膜側よりの刺激を誘発している可能性が示唆された。

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症(TGCV)は、中性脂肪が心筋細胞や冠状動脈、骨格筋などに蓄積し、重症心不全や冠動脈求心性狭窄、ミオパチー等を惹き起こす疾患である。現在までのところ、TGCV の原因遺伝子として、*adipose triglyceride lipase (ATGL)*が報告されている。ATGL knockout mouse、ホモ(ATGL<sup>-/-</sup>)を用いた血管障害モデルを作製し、TGCV の phenotype として、上記の中でも特に重要な冠動脈求心性狭窄発症のメカニズムを詳らかにしたい。

B. 研究方法

右大腿動脈にカフを巻き付け留置し、10日後にカフと共に動脈を採取した。外膜炎や低酸素刺激等を起因とした血管障害モデルの一つ、カフモデルを施行することで、内膜肥厚による求心性狭窄をイメージした。

さらに、ATGL<sup>-/-</sup>の大動脈由来平滑筋細胞(SMCs)を培養し、3μ pore sizeの transwell chamberを用いて、chamber内に遊走因子の一つである platelet-derived growth factor (PDGF)-BBを、chamber外に炎症性サイトカインである tumor necrosis factor (TNF)-αを各々加え、22時間後に chamber底部のフィルター下面へ遊走 migrationしたSMCsの個数を計測した。

(倫理面への配慮)

所属する研究機関で定めた倫理規定等を遵守し研究を遂行した。

C. 研究結果

対照群である wild type (WT; C57BL/6J)では内膜肥厚が軽微なのに対し、ATGL<sup>-/-</sup>では有意に進展しており、血管内腔が高度に求心性狭窄を呈していた。これら肥厚内膜を構成するのは主に遊走

migration してきた SMC であった。*ATGL*<sup>-/-</sup>の大腿動脈壁では、肥厚内膜から外膜にかけて脂肪沈着が同定されている。また、WT と比較して *ATGL*<sup>-/-</sup>では、外膜に浸潤するマクロファージの集簇が有意に高度であり、これらマクロファージに一致して TNF- $\alpha$ の高発現を伴っていた。

さらに *in vitro* 実験において、chamber 内に PDGF-BB を加えた際にのみ（つまり、chamber 外の TNF- $\alpha$ の存在如何に関わらず）*ATGL*<sup>-/-</sup>の SMCs では、WT に比べて、遊走細胞の数が有意に多く見られた。

#### D. 考察

当カフモデルでは‘response to injury hypothesis (inside-out-signaling)’で最も重要な初期 event である、血管内皮障害が理論上、起き得ない。ここに、動脈硬化発症メカニズムにおける outside-in-signaling の重要性が、我々に認識される。これは、外膜における炎症細胞（マクロファージを含む）から産生される、TNF- $\alpha$ といった cytokine だけでなく、外膜に豊富に存在する脂肪細胞から産生される adipokine 等々も、その大きな一翼を担っていることが推察されよう。特に後者は、*ATGL* 欠損による脂質代謝異常（TGCV）と動脈硬化との関連性における研究において、重要な factor の一つになり得るかもしれない。しかしながら、現在までの *in vivo* および *in vitro* 実験の結果からは、inside-out-signaling による *ATGL* 欠損 SMCs の遊走能亢進が、内膜肥厚を進展させる可能性に言及されたのみであり、outside-in-signaling 因子

に関しては今後の課題である。

#### E. 結論

当カフモデルは、TGCV の一表現形である冠動脈求心性狭窄の有益な動物モデルである。*ATGL* 欠損による脂質代謝異常が外膜側よりの刺激 (outside-in-signaling) を誘発している可能性があることを見出したことより、そのメカニズムを解明する発端となり得る。今後その signal 経路をさらに模索すべく検討中である。

#### F. 健康危険情報

該当せず

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- ・第 104 回日本病理学会総会（名古屋、2015 年 4 月）「*ATGL* 欠損 SMCs の遊走能亢進は、動脈内膜肥厚を進展させる」
- ・第 47 回日本動脈硬化学会総会・学術集会（仙台、2015 年 7 月 発表予定）
- ・第 46 回日本動脈硬化学会総会・学術集会（東京、2014 年 7 月）「Depletion of Adipose Triglyceride Lipase Exacerbates Cuff Injury-Induced Vascular Remodeling By Increased Medial Apoptosis and Enhanced Adventitial Inflammation」

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

##### 1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし