

論文の内容の要旨

論文題目 マルファン症候群の大動脈瘤形成における性差の分子機構

氏名 柳青

マルファン症候群 (MFS) は *FBNI* 遺伝子の変異が原因の常染色体優性遺伝の疾患であり、全身の結合組織に異常をきたすが、特に大動脈基部の瘤形成と大動脈解離は生命予後を規定する。MFS の発病率に性差はないとされるが、近年の疫学研究では若年の男性患者で大動脈の拡張や大動脈イベントの発症リスク（大動脈解離や早期の大動脈置換術が必要）が女性患者より高いことが報告されている。モデルマウスを用いた研究でも同様の結果が報告されているが、その分子メカニズムに関する研究はまだ少なく、MFS の大動脈瘤形成における性的二型性の全貌は明らかにされていない。

以上のことから、本研究は性ホルモンの作用に着目し、*Fbn1*^{C1039G/+} の MFS モデルマウス（以下 MFS マウスで表示）を用いて、MFS の大動脈瘤形成に伴う新たな分子メカニズムの解明を目的とし、下記 4 項目にそって実験を行った。

1. 雌 MFS マウスの卵巣摘除術 (OVX: ovariectomy) による大動脈瘤の病態評価

はじめに 7 週齢の雌 MFS マウスに OVX を行い、恣意的にエストロゲンを枯渇させることによる大動脈瘤の病態変化を評価した。結果、OVX による MFS マウス大動脈径の収縮または拡張は見られなかった。このことから、MFS 大動脈瘤の病態ではエストロゲンに

よる関与の可能性が低いことが示唆された。

2. プロピオン酸テストステロン (TP) 投与による雌 MFS マウス 大動脈瘤の病態評価

次に 7 週齢の雌 MFS マウスに TP を投与し、大動脈瘤の病態変化を観察した。その結果、12 週齢の時点で TP を投与した雌 MFS マウスの大動脈がコントロール群より拡張していた。さらに TP 投与 MFS マウスでは上行大動脈のエラスチンの断裂の増加もみられ、アンドロゲンが雌の MFS マウス大動脈瘤の形成を亢進させることが示唆された。

3. 雄マウスの精巣摘除術 (ORX: orchiectomy) による大動脈瘤の病態評価

続いて、7 週齢の雄 MFS マウスに ORX を行い、恣意的にアンドロゲンを枯渇させることによる大動脈瘤の病態変化を評価した。結果、① ORX により雄 MFS マウスの大動脈の拡張は sham マウスと比べ明らかに抑制されており、上行大動脈のエラスチンの断裂やプロテオグリカンの貯留も明らかに抑制されていた。② ORX により MFS マウス大動脈組織では ERK1/2、SMAD2 のリン酸化とマクロファージの浸潤の抑制がみられた。③ MFS マウス上行大動脈で亢進していた MMP の活性や ROS の増加も ORX により抑制されていた。④ ORX により MFS マウスではマクロファージをコードする *Adgre1* 遺伝子や炎症サイトカイン IL-6 の遺伝子の過剰発現が抑制されていた。以上の結果から、ORX により雄 MFS マウスの大動脈瘤形成が抑制され、アンドロゲンが MFS 大動脈瘤の性差を惹き起す重要な原因因子であることがみとめられた。

4. テストステロン刺激による RAW264.7 細胞の遺伝子発現評価

ORX により MFS マウス上行大動脈組織のマクロファージの浸潤の抑制や炎症性サイトカインである IL-6 の高発現の抑制が認められたことから、アンドロゲンが炎症に寄与している可能性が示唆された。それを確認するため、マウスのマクロファージ株細胞で知られる RAW264.7 細胞を用いて、LPS による炎症性の M1 型マクロファージに分化させると同時にテストステロンによる刺激を行った。テストステロン $0\ \mu\text{M}$, $1\ \mu\text{M}$, $10\ \mu\text{M}$, $100\ \mu\text{M}$ の 4 群に分けて刺激した結果、 $100\ \mu\text{M}$ 群で炎症性サイトカインである IL-6 や IL-1 β の明らかな発現の増加がみられた。これより、雄 MFS マウスの大動脈において、テストステロンがマクロファージの炎症性サイトカインの発現を亢進させることで、大動脈の炎症を促進させる可能性が示唆された。

まとめ

本研究では MFS 大動脈瘤形成における性的二型性のメカニズムを解明するため、エストロゲンとアンドロゲン両方の MFS 大動脈瘤形成に与える影響を検討した。MFS マウスで OVX, TP 投与と ORX の三つの手法を用いた大動脈瘤の評価は初めてであり、雌 MFS マウスの TP 投与による大動脈瘤の拡張亢進と ORX によるアンドロゲンの分泌抑制が大動脈瘤の病態を改善させたことを確認し、アンドロゲンが MFS 大動脈瘤の形成における性差の重要な原因因子であることを突き止めた。また、テストステロンがマクロファ

ージを介した炎症性サイトカインの IL-6 を過剰発現させることを確認し、男性 MFS 患者の大動脈イベントの発症リスクが女性よりも高いのは、アンドロゲンの存在による炎症への関与が重要であり、特に IL-6 を介した可能性が高いことが示唆された。以上のことから、本研究は MFS の大動脈瘤形成における性的二型性の原因となる新たな分子メカニズムを見出し、今後の MFS 大動脈瘤の治療に新たな方向性を示すことができるものと考え

る。