

氏名	たしま やすし 田島 泰
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第 816号
学位授与年月日	令和 3年 12月 16日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第4条第3項該当
学位論文名	マルファン症候群モデルオスマウスの胸部大動脈瘤形成におけるアンドロゲンの TGF- β 誘導性 Erk/Smad シグナルへの影響
論文審査委員	(委員長) 教授 田 中 亨 (委員) 教授 今 井 靖 教授 岡 徳 彦

論文内容の要旨

1 研究目的

マルファン症候群 (MFS) は、遺伝性結合組織障害 (フィブリリン 1 遺伝子変異) であり、発生頻度は 5000~10000 人に 1 人で、75%が常染色体優勢遺伝を呈し、残り 25%は新生突然変異とされる。一般的に心血管系、眼球系、および筋骨格系に影響を及ぼし、特に大動脈基部の動脈瘤形成とそれに続く大動脈解離および破裂は主要な死亡原因となるため、予防的な大動脈置換手術が推奨される。

MFS の原因遺伝子であるフィブリリン 1 は細胞外マトリックス (ECM) の構成因子であると同時に、不活性型トランスフォーミング成長因子-ベータ (TGF- β) の複合体と結合し、シグナル伝達を調整している。フィブリリン 1 の変異により、恒常的な活性型 TGF- β の増加および大動脈中膜の構造変化が発生し、動脈瘤形成が誘発されると考えられている。特に TGF- β 誘導性の細胞外シグナル調節キナーゼ (Erk) /Smad シグナル伝達は成人の MFS の大動脈瘤形成過程において重要な病態生理学的役割を果たしていると考えられている。

疫学的に MFS の男性患者は、女性と比較して大血管イベントリスクが高く、大動脈基部拡大の進行が早い。しかし、マルファン症候群の男性患者における大動脈瘤形成過程にアンドロゲンが与える影響に関してはまだ分かっていない。我々は TGF- β が誘導する Erk/Smad シグナル伝達をアンドロゲンが増強し、大動脈瘤拡大の進行に起因すると仮定した。

2 研究方法

マルファン症候群モデルマウス (*Fbn1*^{C1039G/+}) およびその wild type control (WT) の体重および大動脈径を 6、8、12、および 16 週齢で測定し、大動脈瘤形成過程の性差を調査した。また、*Fbn1*^{C1039G/+} オスを、6 から 16 週齢まで (1) flutamide (フルタミド、アンドロゲン受容体遮断薬) または (2) 溶媒コントロール (vehicle control) で治療し、16 週齢で上行/大動脈基部および下行大動脈検体を採取した。そこから p-Erk1/2、p-Smad2、および MMP (matrix metalloproteinase) 活性を測定した。さらに、*Fbn1*^{C1039G/+} オスの上行/大動脈基部由来の平滑筋細胞を作成し、DHT (dihydrotestosterone)、flutamide、または TGF- β 1 で治療し、Erk/Smad

シグナル伝達の活性化および MMP-2 活性を測定した。

3 研究成果

Fbn1^{C1039G/+}オスはメスと比較して上行大動脈および大動脈基部拡大の成長が有意に早く、より拡大傾向であった。さらに 16 週齢のオスの上行/大動脈基部検体では、メスよりも p-Erk1/2、p-Smad2 および active MMP-2 の発現が有意に高かった。上行/大動脈基部検体から作成した平滑筋細胞の研究では、DHT 治療によって TGF- β 1 に誘導された Erk/Smad シグナル伝達および MMP-2 活性が有意に増強され、その増強は flutamide 治療によって打ち消されることが明らかになった。最後に、6 から 16 週齢まで flutamide 治療を行った *Fbn1*^{C1039G/+}オスにおいて、vehicle control 群と比較して上行大動脈および大動脈基部の瘤径が有意に減少し、さらに flutamide 治療群の上行/大動脈基部検体において p-Erk1/2、p-Smad2、および active MMP-2 の発現の減少を認めた。

4 考察

MFS の大動脈瘤発生における病態生理は、複雑な多因子プロセスが存在する。いくつかの研究によると MFS ヒトおよびマウスの大動脈瘤標本では TGF- β シグナルの下流である p-Erk1/2 および p-Smad2 シグナル伝達は増加していると報告されており、TGF- β の病原性役割を示唆している。今回、我々は確立した MFS モデルである *Fbn1*^{C1039G/+}マウス (in vivo) と大動脈 SMC (in vitro) の両方を研究し、MFS の既知の生化学的変化 (TGF- β 誘導性 Erk/Smad シグナル伝達の強化を含む) および大動脈瘤の成長に対するアンドロゲンの効果を系統的に研究した。本研究の主な発見は次のとおりである。(1) *Fbn1*^{C1039G/+}オスはメスと比較して大動脈瘤の拡大、成長が有意に進行していた。(2) *Fbn1*^{C1039G/+}オスの ASC において p-Erk1/2 および p-Smad2 シグナル伝達は有意に増加し、それに相関して MMP-2 活性も同様に増加していた。(3) in vitro 研究で *Fbn1*^{C1039G/+}オスの ASC 由来の SMC において、アンドロゲンは直接的または間接的に TGF- β 誘導性の p-Erk1/2 および p-Smad2 の活性化および MMP-2 活性を増強した。(4) 最後に *Fbn1*^{C1039G/+}オス マウスへの flutamide 治療によって上行/大動脈基部動脈瘤の成長、拡大が減少した。

ベータ遮断薬、ロサルタン、スタチンなどの薬物治療は MFS 大動脈瘤の進行を遅らせる可能性があることが報告されているが、今のところ大動脈瘤への予防的外科的手術が MFS 患者の平均寿命を効果的に延長する確立された唯一の治療法である。本研究は MFS 大動脈瘤の進行を軽減する新しい薬物療法として、食品医薬品局によってすでに承認されているいくつかの抗アンドロゲン薬 (フルタミド、スピロラクトンなど) は、大動脈瘤の進行を抑制し、外科的手術までの時間を延長する役割を果たす可能性があることを示唆している。

4 結論

本研究では MFS モデルマウスにおいて、大動脈瘤の成長や既知のシグナル伝達 (Erk/Smad2 シグナル伝達の活性化) の性差を明らかにした。また、上行/大動脈基部由来の平滑筋細胞研究では、アンドロゲンが直接的または間接的に TGF- β 1 誘導性の Erk/Smad シグナル伝達をより増強することが判明した。さらにオスへのアンドロゲン受容体遮断薬 (flutamide) による治療は大動脈瘤の p-Erk1/2 および p-Smad2 の活性化を減少させ、その拡大を抑制した。

論文審査の結果の要旨

本学位論文では、マルファン症候群の病状進行における性差に関して、疾患モデルマウスおよびそのマウスから得られた平滑筋細胞培養系により、アンドロゲンが直接あるいは間接的に $TGF\beta$ 活性を増強させ、結果として病状を進行させることを明らかにしている。また、アンドロゲンの阻害薬が進行を遅らせ、今後の治療薬となり得ることも示している。臨床的な疑問から出発して、治療法を示唆する段階にまで発展させており、学問的な意義は高い。審査発表の段階では、性差との関連性が強い血圧の影響について、あるいは、アンドロゲンが $TGF\beta$ 以外の生理活性物質を刺激している可能性などの質問が投げかけられた。申請者も、本学位論文で示しえる限界については十分に理解しており、修正したテーシスの中に、様々な問題点を組み入れ、より良い内容に改善している。審査委員会後に修正されたテーシスの内容を踏まえたうえで、審査委員全員一致で合格と判定した。

試問の結果の要旨

申請者は、マルファン症候群の臨床的な背景および疾患モデルマウスの今までの知見を最初に示し、さらに、申請者の学問的、臨床的な「問い」を明らかにしたうえで、本学位論文の論理的な組み立てを説明し、それらを踏まえて実験内容および実験結果の説明を行った。専門家でなくとも理解できる論旨の進め方であり、申請者が研究内容を十分把握していることが窺える。審査委員会では、血圧の影響、あるいは、アンドロゲンの作用機序とその検証、ならびに、アンドロゲン阻害薬の副作用などについて質問が提示されたが、それなりのレベルで回答できている。その中で、自己の主張を強弁的に押し付けることはなく、相互のやり取りの中で、自らの考えを発展させる柔軟性もみられた。また、研究に対する真摯な態度も窺える内容であった。

以上を踏まえて、審査委員全員一致で合格と判定した。