動脈管閉鎖における t-PA 活性の役割

横山詩子*, 齋藤純一, 石川義弘

The role of tissue plasminogen activator in closure of the ductus arteriosus

Utako YOKOYAMA, Junichi SAITO, Yoshihiro ISHIKAWA

Key words: tissue plasminogen activator, elastic lamina, matrix metalloproteinase, the ductus arteriosus

横山詩子

1994年3月
岡山大学医学部卒業, 横浜市立大学で研修医として勤務
1996年4月
済生会横浜市南部病院小児科勤務
1998年4月
東京女子医大循環器小児科練士
1999年4月
横浜市立大学医学部小児科勤務
2003年4月
横浜市立大学医学部循環制御医学助手
2005年10月
カリフォルニア大学サンディエゴ校医学部薬理学博士研究員
2008年4月
横浜市立大学医学部循環制御医学助教
2011年4月
横浜市立大学医学部循環制御医学講師
2014年4月
横浜市立大学医学部循環制御医学准教授

1. はじめに

動脈管とは、大動脈と肺動脈をつなぐバイパス血管であり、胎児が生存するために必要な血管である。通常は、出生直後の肺呼吸の開始とともに閉鎖するが、未熟児ではしばしば出生後も開存したまま(動脈管開存症)になり、心不全などの重大な合併症を起こし、生命予後を左右する。出生体重 1,000 グラム以下の未熟児では動脈管開存症の割合は 40% を超える¹⁾。現在、動脈管開存症に対する治療薬は、血管収縮を目的としたシクロオキシゲナーゼ阻害薬のみであるが、腎機能障害などの重篤な副作用があり、半数近くの見では効果不十分のために外科治療が行われる。このため、動脈管開存症に対する新たな

治療薬の開発が望まれている。

2. 動脈管閉鎖には血管リモデリングが重要である

動脈管が完全に閉鎖するためには、出生直後の血管収縮だけでなく、胎生中期から始まる血管リモデリング(内膜肥厚形成)が重要である^{2,3)}。動脈管開存症の患者や動物の動脈管開存症ではこの内膜肥厚が十分に形成されないことが報告されている^{4,5)}。ことから、この血管壁の変化は動脈管閉鎖に極めて重要な役割を果たしていると考えられる。動脈管の内膜肥厚は、内弾性板の断裂と中膜の平滑筋細胞の血管内腔側への遊走によって形成されるが、特に内弾性板断裂の機序は不明であった。

3. 動脈管の内皮細胞における t-PA の発現と MMP-2 の活性化

われわれはヒト動脈管組織を用いて網羅的遺伝子

*責任者連絡先:

横浜市立大学医学部循環制御医学

〒236-0004 神奈川県横浜市金沢区福浦 3-9

Tel: 045-787-2575, Fax: 045-788-1470

E-mail: utako@yokohama-cu.ac.jp

図1 ラット動脈管での t-PA 発現

図2 胎仔ラットへのプラスミノーゲン投与の内弾性板と内膜肥厚への作用

解析を行い、内膜肥厚部に組織型プラスミノーゲン活性化因子(t-PA)が高発現していることを見出した。t-PAは未熟児や成熟児相当のラット動脈管の内皮細胞に発現しており、発達とともに内弾性板が断裂していく様子が観察された(図1)。

t-PAには弾性線維分解酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)を活性化する作用が報告されている。In situ ザイモグラフィーや、動脈管内皮細胞の培養上清を用いたゼラチンザイモグラフィーで、動脈管の内皮細胞でMMP活性が高いことが確認された。

4. 内皮細胞由来のMMPによる内弾性板の断裂

内皮由来のMMP活性が内弾性板を断裂させることを、3次元の血管モデル⁶⁾を作製して検討した。弾性線維を有する合計7層の平滑筋細胞積層体を構

築し、最上層には、臍帯静脈内皮細胞を積層した。この3次元血管モデルにプラスミノーゲンの添加を行い48時間の培養を行った後に、弾性線維の変化をエラスチカ・ワンギーソン染色で検討した。プラスミノーゲン添加群で弾性線維の断裂とMMPの活性化が確認され、これらの変化は、t-PAのsilencingを行うことで抑制された。

5. 胎仔ラットへのプラスミノーゲン投与による動脈管の内弾性板断裂と内膜肥厚形成の促進

動脈管の内弾性板断裂と内膜肥厚形成が不十分な未熟な胎仔ラットへt-PAの基質であるプラスミノーゲンを投与することで内弾性板断裂と内膜肥厚形成が促進できるかを検討したところ、プラスミノーゲン投与群では動脈管のMMP活性が増加し、内弾性板の断裂と内膜肥厚形成の促進が確認された(図2)。

6. ヒト動脈管の内膜肥厚部における t-PA 高発現と MMP 活性化

さらに、ヒト動脈管の内膜肥厚部では、平滑筋層に比べて t-PA mRNA が約 4 倍高発現しており、免疫組織染色で、内皮細胞における t-PA が多く発現していることが観察された。また、in situ ザイモグラフィでも内膜肥厚部と内弾性板における MMP の活性化が認められた。

7. まとめ

本研究により、t-PA の線溶系に対する作用とは異なる、血管リモデリングへの作用の一端が明らかとなった。動脈管の内皮細胞で高発現する組織型プラスミノゲン活性化因子が、マトリックスメタロプロテアーゼの活性化を介して、内弾性板を断裂させ、内膜肥厚形成を促進することが示唆された⁷⁾。未熟児では血中プラスミノゲン濃度が成熟児に比べて少ないため、動脈管の内弾性板の断裂が起こりにくいことが考えられた。

著者全員の利益相反(COI)の開示：

本論文発表内容に関連して開示すべき企業との利益相反なし

文献

- 1) Van Overmeire B, Allegaert K, Casaer A, Debauche C, Decaluwé W, Jespers A, Weyler J, Harrewijn I, Langhendries JP: Prophylactic ibuprofen in premature infants: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* **364**: 1945–1949, 2004.
- 2) Yokoyama U: Prostaglandin E-mediated molecular mechanisms driving remodeling of the ductus arteriosus. *Pediatr Int* **57**: 820–827, 2015.
- 3) Yokoyama U, Minamisawa S, Quan H, Ghatak S, Akaike T, Segi-Nishida E, Iwasaki S, Iwamoto M, Misra S, Tamura K, Hori H, Yokota S, Toole BP, Sugimoto Y, Ishikawa Y: Chronic activation of the prostaglandin receptor EP4 promotes hyaluronan-mediated neointimal formation in the ductus arteriosus. *J Clin Invest* **116**: 3026–3034, 2006.
- 4) Gittenberger-de Groot AC, Strengers JL, Mentink M, Poelmann RE, Patterson DF: Histologic studies on normal and persistent ductus arteriosus in the dog. *J Am Coll Cardiol* **6**: 394–404, 1985.
- 5) Gittenberger-de Groot AC, van Ertbruggen I, Moulart AJ, Harinck E: The ductus arteriosus in the preterm infant: histologic and clinical observations. *J Pediatr* **96**: 88–93, 1980.
- 6) Ishiwata R, Yokoyama U, Matsusaki M, Asano Y, Kadowaki K, Ichikawa Y, Umemura M, Fujita T, Minamisawa S, Shimoda H, Akashi M, Ishikawa Y: Three-dimensional multilayers of smooth muscle cells as a new experimental model for vascular elastic fiber formation studies. *Atherosclerosis* **233**: 590–600, 2014.
- 7) Saito J, Yokoyama U, Nicho N, Zheng YW, Ichikawa Y, Ito S, Umemura M, Fujita T, Ito S, Taniguchi H, Asou T, Masuda M, Ishikawa Y: Tissue-type plasminogen activator contributes to remodeling of the rat ductus arteriosus. *PLoS ONE* **13**: e0190871, 2018.