

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

古川 浩

専攻分野：外科学

コース：心臓血管外科

指導教授：宮入 剛

主論文の題目：

Characterization of Small Leucine-Rich Proteoglycans in Aortic Valves of Patients with Aortic Valve Stenosis

(大動脈弁狭窄症患者の大動脈弁組織におけるスモールロイシンリッチプロテオグリカンの特徴)

共著者：

Masahide Chikada, Michiyo K. Yokoyama, Mitsumi Arito, Manae S. Kurokawa, Toshiyuki Sato, Masaaki Sato, Kazuki Omoteyama, Naoya Suematsu, Toshiya Kobayashi, Masahiro Sagane, Hirotohi Suzuki, Takashi Ando, Tomohiro Kato, Takeshi Miyairi

緒言

加齢変性性大動脈弁狭窄症 (degenerated aortic valve stenosis, AS) は大動脈弁組織の肥厚硬化から石灰化に至り、弁尖可動性の低下により大動脈弁口狭小化を来す疾患である。我々は以前に AS 弁のプロテオーム解析により AS 弁の肥厚石灰化の強い部分ではそうでない比較的正常に近い部分に比べ、プロテオグリカンの一種であるルミカンの糖鎖修飾が少ないことを報告した。しかし、他のプロテオグリカンについては、検討されていない。今回、ルミカン同様にプロテオグリカンの一種である Proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein (PRELP)、デコリン、バイグリカンについて、AS 弁の肥厚石灰化の強い部分とそうでない部分での差異を検討した。

方法・対象

AS に対して大動脈弁置換術を受ける患者から文書によるインフォー

ムドコンセントを得た上で、手術時に採取された大動脈弁を使用した。採取された弁組織を個々に肥厚石灰化の強い部分 (AS-C) とそうでない部分 (AS-N) に分離、破碎しタンパク質を抽出した (n=8)。抽出タンパク質の一部は脱糖鎖酵素 PNGase を用いて N 型糖鎖修飾を除去した。それぞれの抽出タンパク質を一次元または二次元電気泳動で分離し、ウェスタンブロット法により、PRELP、デコリン、およびバイグリカンの各分子を検出し、量的・質的分析を行った。

なお本研究は、聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会 (承認第 1460 号) の承認を得たものである。統計は Student の t 検定を用い、 $P < 0.05$ で有意差ありとした。

結果

PRELP の総量は AS-N に比べ AS-C で有意に少なかった ($P=0.02$)。1 次元ウェスタンブロット上の PRELP のバンドを分子量に合わせて三等分し、それぞれの領域で PRELP 量を AS-N と AS-C とで比較したところ、分子量の大きい領域では有意差はなく ($P=0.28$)、中分子量域と低分子量域では AS-C での有意な減少が見られた ($P=0.02$)。PNGase による脱糖鎖で各分子量域のバンドは全て単一の分子量のバンドに収束することから、AS-C では N 型糖鎖修飾の少ない PRELP が減少していると判断された。

デコリンの総量を AS-N と比較すると AS-C で有意に少なかった ($P=0.01$)。AS-C で減少していたデコリンは PNGase でも除去されない修飾を持つデコリンであった。このことから AS-C では N 型糖鎖のみ付加されたデコリンは減少していないが、O 型糖鎖の付加したデコリンが減少していると考えられた。

AS-C と AS-N でバイグリカンの総量に有意差は無かった ($P=0.50$)。しかし、総バイグリカン量における 80-100KDa の高分子量バイグリカンの割合が AS-C で有意に減少していた ($P=0.01$)。

考察

PRELP の持つ多彩な生理活性の一つに、補体活性の抑制がある。AS 進行の機序の一つである弁組織の炎症に、補体の関与が指摘されており、AS-C での PRELP 減少は AS 弁での炎症の促進因子になっている可能性がある。また、AS の特徴の一つである石灰化に matrix metalloproteinase (MMP)-9 の関与が指摘されているが、デコリンは血管平滑筋細胞からの MMP-9 分泌を抑制することが報告されており、AS-C でのデコリン減少も AS 弁石灰化の促進因子になっている可能性がある。

バイグリカン骨代謝や石灰化に影響を与えるが、軟骨組織において加齢とともにグルコサミノグリカン鎖を持たないバイグリカンが増加するとの報告もあり、AS-C での高分子量バイグリカンの割合低下はこれを反映している可能性がある。

結論

AS 弁の肥厚石灰化の強い部分では比較的正常に近い部分に比べ、PRELP、デコリン、バイグリカンの総量や糖鎖修飾が異なっていることが示された。これらの変化が局所の炎症や石灰化に影響を与え、AS 進行を助長している可能性がある。