

機関リポジトリ登録用論文の要約

論文提出者氏名	循環病態科学領域心臓血管外科教育研究分野 氏名 楊 薇
<p>(論文題目)</p> <p>Menaquinone-4 accelerates calcification of human aortic valve interstitial cells in high-phosphate medium through PXR</p> <p>(メナキノ-4 は、PXR を介して高リン酸培地でヒト大動脈弁間質細胞の石灰化を促進する)</p>	
<p>(内容の要旨：和文で 2,000 字程度)</p> <p>我々は最近、大動脈弁狭窄症 (AVS) 患者から得たヒト大動脈弁間質細胞 (HAVIC) で、ビタミン K2 拮抗薬であるワルファリン (WFN) が高リン酸培地下で石灰化を誘発することを確認した。大動脈弁石灰化における WFN の病態生理学的役割を明らかにするには、ビタミン K2 の役割を明らかにする必要がある。本研究では、高リン酸培地下、WFN による HAVIC 石灰化が、動物に含まれるビタミン K2 で最も一般的な存在であるメナキノ-4 (MK-4) によって阻害されるかどうかを調べた。</p> <p>インフォームドコンセントを得た大動脈弁置換術を受ける AVS 患者から得られた HAVICs を本研究に用いた (n=6)。摘出した弁組織を約 2 mm 角に切断してこらべな一ぜ処理を行い、HAVICs を分離したのち、10% FBS を含む α-Modified Eagle's Medium で培養した。80%~90% コンフルエントに達したのち、MK-4 および WFN の存在下または非存在下で 7 日間、高リン酸培地下 (3.2 mM) で培養した。興味深いことに、高リン酸培地下では、MK-4 は用量依存的 (3–100 nM) に WFN 誘発 HAVIC 石灰化を促進した。また、MK-4 単独 (10 nM) でも HAVICs 石灰化を促進することを確認した。さらに、MK-4 は 7 日間の培養で HAVICs のアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を増強し、石灰化マーカーの骨形成タンパク質 2 (BMP2) の遺伝子発現を著しくアップレギュレートした。</p> <p>そこで、MK-4 誘発性 HAVIC 石灰化の分子機構を明らかにするため、様々な阻害薬を用いて薬理的検討を行った。まず、PiT-1 の阻害薬、ホスホノギ酸、または Smad1/5/8 の阻害薬、ドルソモルフィンがそれぞれ高リン酸培地下で MK-4 誘発性 HAVIC 石灰化を有意に抑制することを確認した。一方、MAPK の阻害薬、SB23906、または NF-κB 阻害薬、SN-50 は MK-4 誘発性石灰化を抑制しませんでした。我々は、TNF-α が NF-κB を介して BMP2 発現を亢進し、その結果として転写因子 Smad1/5/8 発現亢進、さらに石灰化関連遺伝子の発現を介して ALP を活性化することで石灰化を誘発することを明らかにしている (Yu et al., 2011)。しかし、今回の結果は、NF-κB が関与しないことを示唆している。そこで、他の経路の存在を探索したところ、2 つのプレグナン X 受容体 (PXR) 阻害剤、ケトコナゾールとクメストロールが MK-4 誘発性 HAVIC 石灰化を強力に抑制することを見出した。さらに、PXR 活性が MK-4 によって用量依存的に有意に増加することを確認した。以上の結果は、MK-4 が PXR 活性を刺激すること</p>	

で BMP2 発現を亢進し、HAVICs 石灰化を誘発することを強く示唆している。

次に、生理学的に正常なリン酸培地で、MK-4 が BMP 発現を亢進するかどうか検証した。その結果、MK-4 は正常リン酸培地下でも BMP2 遺伝子発現を有意に増加させ、これが PXR 阻害薬、クメストロールの共存で抑制された。さらに、過剰な BMP2 (30 ng / mL) による HAVIC 石灰化モデルを作成し、これに対する MK-4 の作用を調べたところ、MK-4 は過剰 BMP2 誘発性 HAVIC 石灰化をさらに亢進し、この変化がクメストロールによって抑制されることを明らかにした。

以上の結果は、MK-4 が PXR-BMP2-ALP 経路を介して AVS 患者の HAVIC の石灰化を促進することを強く示唆している。