HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Preferential incorporation of administered eicosapentaenoic acid into thin-cap atherosclerotic plaques

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2020-04-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐藤, 智仁 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003698

博士（医学）　佐藤　智仁

論文題目

Preferential incorporation of administered eicosapentaenoic acid into thin-cap atherosclerotic plaques

（経口投与したエイコサペンタエン酸は線維性被膜の薄い動脈硬化プラークへ優先的に取り込まれる）

論文の内容の要旨

［はじめに］

エイコサペンタエン酸（EPA）やドコサヘキサエン酸（DHA）といった n-3 多価不飽和脂肪酸（PUFA）が、抗動脈硬化作用を持つことは知られているが、アテローム性動脈硬化プラークに取り込まれた n-3PUFA の詳細な分布やプラークの進行との関りは不明である。我々の目的は、アテローム性動脈硬化プラーク内の EPA や DHA、その代謝物の薬理作用を調べることである。

［材料ならびに方法］

アポリポプロテイン E 欠損（Apoe-/-）マウスに高脂肪食を摂取させ、EPA 含有高脂肪食を 3 週間摂取させた EPA 投与群、DHA 含有高脂肪食を 3 週間摂取させた DHA 投与群、高脂肪食のみを継続したコントロール群とした。EPA、DHA、それらの代謝物や EPA 含有脂質などの分布を調べるため、各群の大動脈弁部、大動脈弓部に形成されたプラークを質量顕微鏡法（IMS）にて解析した。これらの実験は、持田製薬株式会社動物実験委員会の承認（承認番号 P14-4010、PMS15-013）を得て行われた。質量顕微鏡解析について、遊離脂肪酸や脂肪酸代謝物の検出には最も非破壊的な手法である脱離エレクトロスプレーイオン化（DESI）を、遊離脂肪酸と他の脂質から分離したフラグメントの脂肪酸の和である総脂肪酸の検出には銀ナノ粒子を用いた Nano-Particle assisted Laser Desorption/Ionization（nano-PALDI）を、その他の n-3PUFA 含有脂質の検出にはマトリクス支援レーザー脱離イオン化（MALDI）を使用した。また、プラーク内や血漿中の脂質定量のため液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）による解析を行い、組織学的な解析と質量分析画像との比較も行った。

［結果］

Control 群と比較し、EPA 投与群で内膜の縮小を認め、特にマクロファージが強く集積するプラークで有意な縮小を認めた。プラークのサイズ変化については 3 群間で差を認めなかった。

遊離脂肪酸とフラグメント脂肪酸の和である総脂肪酸の分布を nano-PALDI-IMS にて解析すると、EPA 投与群で総 EPA が DHA 投与群で総 DHA が増加しており、両群で総アラキドン酸（AA）が減少した。総 EPA の分布はプラークの血管内腔側で最も多く、プラーク深部へかけて徐々に減少するグラデーションを示しこれはマクロファージの免疫染色強度の分布と類似した。

EPA 含有脂質など他の脂質分布を MALDI-IMS にて解析すると、EPA 含有コレステロールエステル（CE（EPA））が EPA 投与群で Control 群の約 36 倍と著明に増加しており、DHA 投与群でも CE（DHA）の増加（約 4.4 倍）を認めた。EPA 含有フォスファチジルコリン（PC）の増加も EPA 投与群で認められたが CE（EPA）程の差は認めなかった。CE（EPA）が血管内腔側で増加しているのに対し、EPA 含有 PC は外膜側で増加する異なる分布を示した。

大動脈弓部全体を使用し LC-MS/MS によるリピドミクスを行うと、EPA 投与群で EPA 由来代謝物である 12-ヒドロキシエイコサペンタエン酸（12-HEPE）が、DHA 投与群では、DHA 由来代謝物である 14-ヒドロキシドコサヘキサエン酸（14-HDoHE）が著しく増加しており、両群で AA 由来代謝物の減少を認めた。

次に、LC-MS/MS で検出された遊離脂肪酸や n-3PUFA 由来代謝物をイメージングするため、DESI で大動脈弓部を解析した。遊離脂肪酸の EPA は EPA 投与群で、遊離脂肪酸の DHA は DHA 投与群のプラークで増加することを認め、それらはプラークの中央に分布を認めた。また 12-HEPE や 14-HDoHE といった n-3PUFA 由来代謝物のイメージングも行い、それらも遊離脂肪酸と同様にプラーク中央で強く検出された。免疫組織化学染色によりマクロファージ染色と比較すると、抗動脈硬化作用を持つとされる M2 マクロファージが強く検出されるプラークで遊離脂肪酸の EPA や 12-HEPE が強く検出された。

［考察］

血管壁内に浸潤した単球はマクロファージへ分化し、CE リッチな低密度リポタンパク質を取り込みプラーク内へ蓄積する。マクロファージが一定以上の CE を取り込むと、それらは遊離コレステロールと遊離脂肪酸として脂肪滴に貯蔵されることが報告されている。本研究にて、総 EPA と CE（EPA）はプラークの血管内腔側でマクロファージ染色領域と共局在しており、遊離脂肪酸の EPA や EPA 代謝物はプラーク中央で検出された。これらの結果はマクロファージが投与された EPA を主に CE（EPA）の形で血液中からプラーク内へ取り込む様子を質量分析イメージングで捉えたものと考えられた。

EPA と DHA は似ているが、分子構造など異なっており同一ではない。本研究では EPA 投与群のみに内膜の縮小や、抗動脈硬化作用を持つ M2 マクロファージとの共局在が見られた。ただし、DHA にも抗動脈硬化作用を持つことは報告されている。本研究でも LC-MS/MS の結果によると血中濃度は DHA の方が低いため、DHA 投与により EPA と同様の作用を得るためには高濃度あるいは長期間の投与が必要だったと考えられた。

［結論］

投与された EPA は、血管内腔側からプラークへ取り込まれ、特に線維性被膜の薄いプラークに取り込まれやすいことが分かった。