

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
岡部 太一	主査 教授 勝間田 敬弘 副査 教授 北浦 泰 副査 教授 出口 寛文 副査 教授 近藤 敬一郎
主論文題名 Rabbit plaque models closely resembling lesions in human coronary artery disease (ヒト冠動脈病巣に極めて類似したウサギプラークモデルの作成)	
学位論文内容の要旨	
《研究目的》 急性冠症候群(ACS)の本態は、薄い線維性被膜と豊富な脂質成分、炎症細胞の浸潤や細胞外基質の減少を特徴とする不安定プラークの破綻と、それに引き続いて生じる血栓形成により冠動脈の閉塞が起こることである。ヒト冠動脈では、幼年期より平滑筋細胞(SMC)、I型コラーゲン、プロテオグリカンなどに富んだびまん性内膜肥厚が形成され、徐々にアテローマへと変化していく。ACSの発症予防法を開発する研究において動物モデルは有用と考えられるが、ヒト冠動脈と同様なプラーク形成過程を示すことが重要と思われる。しかし、今まで動物モデルとして用いられてきたアポE欠損マウスやLDL受容体欠損マウスは、ヒト冠動脈と形成過程が異なる。またウサギモデルでは、0.5%以上のコレステロール食負荷では線維性被膜の欠如したマクロファージに富んだ脂質コアが形成され、0.5%以下のコレステロール食を6ヶ月以上投与すると線維性被膜に覆われた病変が形成されるが、多くの時間や費用を要する。そこで今回、バルーン傷害とコレステロール食を組み合わせ、ヒト冠動脈動脈硬化の検討に適切な動物モデルの作成を目的とした。	

《対象と方法》

雄性日本白色家兎(体重 2.5~3.0kg) 58 羽の頸動脈を、麻酔下でのバルーン傷害とコレステロール食(1%コレステロール+6%のココナツ油)を組み合わせ、次の 6 種類のモデルを作製した。モデル 1;バルーン傷害後、4 週間の普通食投与群(n=6)、モデル 2;バルーン傷害後に 4 週間の普通食、その後に 4 週間のコレステロール食負荷群(n=11)、モデル 3;コレステロール食 4 週間後にバルーン傷害、さらに 4 週間のコレステロール食負荷群(n=10)、モデル 4;バルーン傷害後、コレステロール食 4 週間負荷群(n=10)、モデル 5;モデル 2 のコレステロール食負荷期間を 4 週から 8 週に延長した群(n=10)、モデル 6;モデル 2 の普通食投与期間を 4 週から 8 週間に延長後、コレステロール食 4 週負荷した群(n=11)の 6 群とした。

組織学的検討は、Oil red O 染色、Elastica van Gieson (EVG) 染色、免疫染色を用いて、マクロファージ(RAM-11)、SMC (α -SM)、増殖細胞活性(PCNA)、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP-9)、組織因子(TF)を染色した。

MMP-2, -9 活性は gelatin zymography を用いて測定した。

《結 果》

モデル 1 では、SMC が豊富で、マクロファージをほとんど含まない新生内膜が形成された(I/M 比;0.48±0.04)。モデル 2 では、内膜面積が増大し、中膜側にマクロファージ、内腔側には SMC が集簇し、ヒト冠動脈の安定プラーク類似の組織像であった。モデル 3, 4 では、動脈硬化類似病変は形成されなかった。モデル 2 のコレステロール食を 4 週から 8 週に延長したモデル 5 では、モデル 2 に比して内膜面積は増大し(I/M 比:1.25 vs.0.73)、マクロファージは増加、線維性被膜は菲薄化した(84±12 vs. 150±31 μ m, p<0.01)。モデル 6 では、内膜における SMC が著明に増加し、マクロファージは減少したが、内膜面積(I/M 比)に有意差は認めなかった。

モデル 5 における脂質コアと線維性被膜における細胞増殖活性は、それぞれ 25%と 6%であった。

モデル 5 では、モデル 2 に比して MMP-9 や TF の発現が増加し、弾性線維の含有量が減少していた。MMP-2, 9 の活性はモデル 5 で有意に高値であった。また MMP-9 の発現と弾性線維の含有量の間には、有意な負の相関を認めた ($R^2=0.52$, $P=0.0003$)。

《考察および結論》

今回の 6 種類のモデルを用いた検討において、線維性被膜の形成にはバルーン傷害後に普通食投与を行うことが必要であり、プラークモデル作成にはバルーン傷害に伴う内膜肥厚とコレステロール食負荷の組み合わせが重要であった。

ヒト冠動脈は、内膜にマクロファージが集簇する以前の幼年期から SMC によるびまん性内膜肥厚が起こると報告されている。ヒト冠動脈におけるびまん性内膜肥厚とモデル 1 における新生内膜のほとんどは、増殖活性が低い SMC によって構成され、脂質コアの形成がない点が類似していた。さらにモデル 2, 5 は、SMC による内膜肥厚(モデル 1)後、内膜にマクロファージが集簇しており、この組織学的所見は、ヒト冠動脈の組織像に類似していた。コレステロール食負荷期間を延長することで MMP-9 の発現・活性化が増加し、弾性線維の減少を認め、プラークが不安定化することが示唆された。

モデル 1, 2, 5 はそれぞれヒト冠動脈のびまん性内膜肥厚、安定プラーク、不安定プラークに類似したモデルと考えられ、本モデルは新たな治療法の開発に有用なモデルと考えられる。

審査結果の要旨(案)および担当者

報告番号	乙第号	氏名	岡部太一
論文審査担当者		主査教授 勝間田 敬弘	
		副査教授 北 浦 泰	
		副査教授 出 口 寛 文	
		副査教授 近 藤 敬 一 郎	
主論文題名			
Rabbit plaque models closely resembling lesions in human coronary artery disease			
(ヒト冠動脈病巣に極めて類似したウサギプラークモデルの作成)			
論文審査結果の要旨			
<p>急性冠症候群(ACS)の発症予防の研究において、動物モデルは有用と考えられるが、その際、ヒト冠動脈と同様なプラーク形成過程を示す動物モデルが必要である。しかし、これまでの動物モデルは、必ずしもヒト冠動脈と類似のプラーク形成過程を示すものではなかった。申請者は、ヒトの冠動脈プラーク形成に類似した動物モデルの作成を目的に、家兎においてバルーン傷害後にコレステロール食負荷を行った。その結果、本モデルにおいては、バルーン傷害後、普通食投与にて SMC による内膜肥厚が形成され、引き続きコレステロール食負荷を行うことでマクロファージの集簇した脂質コアが線維性被膜に覆われる病変に進展、更にコレステロール食負荷を続けると線維性被膜は薄く、脂質コアが大きくなることが明らかになった。これらの組織学的特徴は、ヒト冠動脈のびまん性内膜肥厚、安定プラーク、不安定プラークに類似していた。</p> <p>本モデルはプラーク病変の形成過程がヒト冠動脈病変に類似しており、再現性良く病変が形成されることから、プラーク不安定化のメカニズムやACSの新たな治療法の開発に有用なモデルと考えられる。</p> <p>以上により、本論文は本学学位規程第3条第2項に定めるところの博士(医学)の学位</p>			

を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

International Journal of Cardiology 2009, in press <オンライン掲載>