

京都大学	博士（医学）	氏名	山本 優
論文題目	Irradiation Accelerates Plaque Formation and Cellular Senescence in Flow-Altered Carotid Arteries of Apolipoprotein E Knock-Out Mice (アテローム性頸動脈硬化症モデルマウスにおいて、放射線照射は頸動脈プラーク形成と細胞老化を促進させる)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p><b>【背景・目的】</b> がん治療の進歩が患者の予後を改善させた一方、がん治療に伴う長期的合併症が問題となっている。頭頸部がん領域では、放射線誘発性頸動脈硬化症による虚血性脳卒中が、がんサバイバーの生命予後やADLに影響を与える。近年、慢性疾患・慢性炎症の新たな機序として、Senescence-associated secretory phenotype (SASP) と呼ばれる、DNA 損傷反応を介し老化細胞から炎症性サイトカインの分泌反応が引き起される現象が注目されている。動脈硬化領域では、プラークにおけるDNA 損傷や老化細胞の蓄積が報告されているが、放射線照射誘発性頸動脈硬化症とSASPの関連性は示されていない。</p> <p>本研究の目的の1つは、放射線誘発性頸動脈硬化症のモデルマウスを作成することである。放射線照射単独ではマウス頸動脈プラークの発生率が増加しないことが先行研究により示されており、頸動脈に外科処置を加え動脈硬化を惹起させた上で、放射線照射した。2つ目は、放射線照射後の頸動脈プラーク形成におけるSASPの可能性について検証することである。</p> <p><b>【方法】</b> 高脂肪食を与えた9週齢の雄アポリポタンパク質E欠損マウスに対し、左上甲状腺動脈を温存するよう左頸動脈分枝を結紮し、血行力学的負荷によって動脈硬化を惹起させた。結紮術2週後にガンマ線6Gyで全身照射し、照射4週後に左総頸動脈を採取した。Elastica van Gieson 染色、免疫蛍光染色法、免疫組織染色法、定量PCR法で照射群と非照射群の総頸動脈を比較した。</p> <p><b>【結果】</b> 照射群の90.9%、非照射群の72.3%に病理学的な動脈硬化進行病変が認められ、照射群では非照射群に比べ内膜面積が有意に大きかった。マクロファージで陽性となるIba-1は、非照射群と比較し照射群のプラークで有意に高頻度に発現していた。また、alpha smooth muscle actin (<math>\alpha</math>-SMA) およびvimentinで血管平滑筋細胞(VSMC)の形質(それぞれ収縮型、脱分化型を反映)を評価したところ、vimentin/<math>\alpha</math>-SMAの面積比率は照射群で有意に高かった。2本鎖DNA損傷反応を反映する53BP1は、照射群で有意に高く発現していた。照射群において、プラーク内の53BP1陽性細胞のうち、81.3 ± 7.55%がvimentin陽性であったのに対し、Iba-1陽性は9.96 ± 6.13%と低かった。サイクリン依存性キナーゼ阻害タンパク質p16INK4a、p21は、非照射群に比べ照射群のプラークで有意に高く発現していた。さらに炎症関連遺伝子の発現は照射群で有意に高かった。</p> <p><b>【考察】</b> 今回のモデルマウスでは、照射群の頸動脈においてプラーク量の増大、マクロファージ集積の増加、VSMCの脱分化進行が認められ、放射線照射によって動脈硬化が促進することが示された。さらに、照射プラークではDNA損傷反応の上昇、細胞老化の特徴である細胞周期の停止、炎症反応の上昇が認められ、SASPを示唆する結果であった。長期的なDNA損傷が脱分化型VSMCに偏在していたことから、放射線照射による血管局所のDNA損傷がプラークの形成・進展に重要であると考えられた。</p> <p><b>【結語】</b> 放射線照射によりマウス実験的頸動脈プラークが増大した。放射線誘発性動脈硬化症の機序の一つとして、SASPが関与している可能性がある。今回のモデルマウスは、放射線誘発性動脈硬化症の病態解明に寄与することが期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

放射線治療による長期的合併症として動脈硬化が挙げられる。頭頸部がん領域では頸動脈狭窄症による虚血性脳卒中が問題となる。その病態解明には基礎研究が必要だが、適切な動物モデルが報告されていない。

本研究では、高脂血症モデルマウスの左頸動脈を部分結紮し、乱流による動脈硬化を惹起した状態で放射線照射するプロトコルを考案した。形態学的に動脈硬化巣が増大したことに加え、マクロファージ集積の増加、血管平滑筋の脱分化進行といった病理学的な側面からも、放射線照射による動脈硬化の進行を示した。

動脈硬化進行の機序として、Senescence-associated secretory phenotype (SASP) と呼ばれる、DNA 損傷反応を介した老化細胞による炎症性反応に着目した。放射線照射後のプラークではDNA 損傷反応が遷延し、細胞老化の特徴であるサイクリン依存性キナーゼ阻害タンパク質の発現上昇が認められ、炎症関連遺伝子の発現は上昇していた。これらはSASPの仮説を支持する結果であり、放射線照射後の頸動脈プラーク形成におけるSASPの可能性を示唆した。

本研究は、放射線誘発性頸動脈硬化症のモデルマウスを確立するとともに、その病態として細胞老化が関与している可能性を示した。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、令和3年12月24日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降