

氏 名	佐 野 秀 人
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2401 号
学位授与の日付	平 成 13 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Functional Blockade of Platelet-derived Growth Factor Receptor- β but Not of Receptor- α Prevents Vascular Smooth Muscle Cell Accumulation in the Fibrous Cap Lesions in Apolipoprotein E-deficient Mice (アポリポプロテインE欠損マウスにおいて、血小板由来増殖因子 α 受容体ではなく β 受容体の機能的遮断が、血管平滑筋細胞の繊維性硬斑領域への蓄積を抑制する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 内 山 卓 教 授 中 尾 一 和 教 授 北 徹

論 文 内 容 の 要 旨

【背景・目的】粥状動脈硬化は血管内皮細胞表面への血球細胞の接着、内膜下への遊走、泡沫細胞化に始まり、進行期には血管平滑筋細胞の内膜への遊走と多彩な病態を示すとされる。しかしながら、これらが生体内でいかに生じているか、言い換えれば形態再構築過程としての粥状動脈硬化病変における各細胞の時間・空間的役割については十分な研究がなされていない。我々はこの問題を個体レベルで解明すべく、血小板由来増殖因子 (PDGF) 受容体に対する機能遮断モノクローナル抗体を作製し、粥状動脈硬化モデル動物であるアポEノックアウトマウスに投与し、粥状動脈硬化の形成様式への影響をみた。

【方法】PDGF受容体には二種類のアイソフォーム (α 受容体と β 受容体) が存在し、それぞれの細胞外ドメインを抗原としラットに免疫して、特異的機能遮断モノクローナル抗体を作製した。これら抗体に対する *in vitro* でのPDGF受容体への結合と細胞での機能遮断を確認した後、モデル動物への投与を行った。6週令から0.3%コレステロール食負荷した12週令のアポEノックアウトマウスに対し、それぞれの抗体 (1mg/日) を12—18週の6週間隔日に腹腔内投与した。18週令で大動脈起始部の凍結切片を脂肪染色し、画像解析にて病変を定量的に検討した。病巣における平滑筋細胞、マクロファージは免疫組織染色にて検出した。コントロールとして同時期に非免疫ラットIgGを投与したマウスを用いた。

【結果】1) PDGF β 受容体遮断抗体を12—18週に投与したマウスでは、18週令において粥状動脈硬化病巣容積が対照の約30%までに減少した。一方、PDGF α 受容体遮断抗体投与は病変に対して著明な抑制効果を示さなかった。2) PDGF β 受容体遮断抗体を投与したマウスでは大動脈起始部内膜において平滑筋細胞の顕著な減少を認め、繊維性硬斑の形成が著明に抑制されていた。PDGF α 受容体遮断抗体および対照非免疫抗体投与群においてはこのような抑制効果を認めなかった。3) 平滑筋細胞に対する著明な作用に反し、両受容体遮断抗体はいずれも病巣におけるマクロファージの分布様式には影響を与えなかった。4) 内膜平滑筋細胞においてはPDGF β 受容体の発現がPDGF α 受容体の発現に対して優勢であったが、中膜平滑筋細胞においては両受容体ともほぼ同様な発現形態を示した。

【考察】以上の成績は、生体内において粥状動脈硬化病変進展期病変の成立にPDGFとその受容体に関わることを、中膜における平滑筋細胞ではPDGF β 受容体を介した情報伝達系の亢進を伴う何らかの形質転換が生じていることを示唆する。従来PDGF/血管平滑筋細胞の病的意義は血管障害モデルにおいて検証されてきたが、本研究においては人為的な血管障害を伴わない粥状動脈硬化モデルにおける各種細胞の相互作用の存在を示すとともに、その調節的介入が粥状動脈硬化病巣の質的ならびに量的制御に作動しうることを示すものである。さらにこの過程の詳細な解析から、1) 粥状動脈硬化成立における二種のPDGF受容体間の生理的意義の差異、2) 中膜平滑筋細胞の形質転換に関わる基本的調節遺伝子の検証にも検討しうると期待される。

論文審査の結果の要旨

申請者は、粥状動脈硬化の成立機構における細胞間の相互作用、とくに各細胞における時間・空間的役割について個体レベルで解明すべく、血小板由来増殖因子（PDGF）受容体に対する機能遮断モノクローナル抗体を作製し、粥状動脈硬化モデル動物に投与し、粥状動脈硬化の形成様式への影響をみた。方法としては、ラット抗マウス PDGF α 受容体及び β 受容体抗体を作製し、粥状動脈硬化の病態モデル動物であるアポ E ノックアウトマウスへ投与した。食餌条件として普通食と高コレステロール食を投与した。抗体は12週令から18週令まで投与し、大動脈起始部周辺の凍結切片の脂肪染色、免疫染色を行った。その結果、高コレステロール食群において、PDGF β 受容体抗体投与群では動脈硬化病変が著明に減少した。一方 PDGF α 受容体抗体投与群では大きな変化はなかった。また PDGF β 受容体抗体投与群において免疫染色により内膜繊維性硬斑の形成及び平滑筋細胞の著明な減少がみられた。従来は PDGF/血管平滑筋細胞の病的意義は血管障害モデルにおいて検証されてきたが、本研究においては人為的な血管障害を伴わない粥状動脈硬化モデルにおいて各細胞の相互作用の存在を示すとともに、その調節的介入が粥状動脈硬化病巣の質的ならびに量的制御に作動しうることを世界に先がけて示したものである。

以上の研究は、粥状動脈硬化の形成における PDGF 受容体の役割についての解明に貢献し、粥状動脈硬化の形成機序と構成細胞間の相互作用などの基礎的、および粥状動脈硬化病変抑制、病変部位の安定化などの臨床面への応用にも寄与するところが多い。

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、平成13年4月23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。