

氏 名	許 揚
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医博第 2739 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 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	Role of bone marrow-derived progenitor cells in cuff-induced vascular injury in mice (カフ傷害血管病変におけるマウス骨髄由来前駆細胞の役割)
論文調査委員	(主査) 教授 成 宮 周 教授 米 田 正 始 教授 横 出 正 之

論 文 内 容 の 要 旨

現在、経皮的冠動脈形成術及びステント留置術は、虚血性心疾患に対する標準的治療法として確立されている。しかし、術後慢性期において血管の再狭窄が30～40%に生じる。この再狭窄は、これまでの病理学的研究から、初期の血栓形成及びそれに引き続き起こる新生内膜の肥厚によると考えられている。この血管内膜肥厚は主に平滑筋細胞の増殖と遊走によるものであると指摘されているが、その起源細胞及び分化メカニズムはいまだ解明されていない。そこで我々はカフ装着血管傷害モデルを用いて、血管再構築過程における骨髄由来細胞の機能とその分化メカニズムについて検討した。

(1) まず、C57Bl/6マウス（8～10週齢）に9Gyの γ 線を照射後、GFP遺伝子発現トランスジェニックマウスの骨髄を移植し、4週間後にフローサイトメトリーを用いて骨髄の再構成を確認した。すなわち、末梢白血球のGFP陽性率が85%以上の個体を選択して、右大腿動脈にポリエチレンカフを装着し、左側はsham手術を施行して対照とした。2週間後に両側大腿動脈を採取し、病変を免疫蛍光法により解析すると、傷害大腿動脈ではカフ装着部付近に大量のGFP陽性（骨髄由来）細胞の集簇を認め、この細胞は平滑筋細胞、マクロファージ、あるいは血管内皮へ分化していることが明らかとなった。また、カフ装着側の動脈管腔では対照と比べ、有意な狭小化を認めた。

(2) 次に、血管病変に集簇する細胞を選択的に除去（cell ablation）するため、既報（村山敏典ら Circulation 99: 1740-1746, 佐野秀人ら Circulation 103: 2955-2960, 及び参考論文2）のごとく、拮抗抗体を用いて受容体系チロシンキナーゼを介する情報伝達を遮断した。すなわち、抗c-fms（M-CSF受容体）抗体、抗PDGF β 受容体抗体、及びサブクラスを合わせた対照IgGを、それぞれ4匹のC57Bl/6マウス（骨髄移植未施行）に、大腿カフ装着後1mg/日を連日2週間腹腔内に投与した。実験終了後、両側の大腿動脈を採取し免疫組織化学的解析を行うと、抗c-fms抗体を投与したマウスでは、対照IgG投与群に比べてマクロファージの浸潤が特異的に抑えられたと同時に、平滑筋細胞が増加していた。一方抗PDGF β 受容体抗体を投与したマウスでは、カフ装着部位におけるマクロファージの浸潤は対照IgG投与群に比較してむしろ増加しており、逆に平滑筋細胞は減少していた。また、対照IgG投与群に比較して、これらの抗体を投与した群では病変面積は有意に減少していた。

(3) さらに、これらの拮抗抗体が骨髄由来細胞に及ぼす影響を評価するため、上記(1)のごとく骨髄移植を行ったC57Bl/6マウスに(2)に示す各抗体を投与すると、これらの抗体投与群では、病変部の骨髄由来細胞は、対照IgG投与群に比べて有意に減少していた。

本研究により、血管再構築病変における骨髄由来細胞の関与が強く示唆された。さらにこれらの細胞群はマクロファージ、平滑筋細胞、血管内皮細胞への分化能を持ち、互いに抑制的に血管の再構築を制御している可能性が明らかになり、傷害血管再狭窄の予防ならびに治療法の開発の上で有意義な知見と考えられる。

論文審査の結果の要旨

血管傷害後に骨髄由来前駆細胞の役割を解明することを目指し、申請者はC57Bl/6マウスに致死量の9Gyの γ 線を照射後、GFP遺伝子発現トランスジェニックマウスの骨髄を移植し、右大腿動脈にポリエチレンカフを装着し、左側はsham手術を施行して対照とした。2週間後に採取した組織を解析した結果、傷害大腿動脈では大量の骨髄由来細胞の集簇を認め、平滑筋細胞、マクロファージ、あるいは血管内皮へ分化していることが明らかとなった。また、カフ装着側の動脈管腔では対照と比べ、有意な狭小化を認めた。

次に、血管病変に集簇する細胞を選択的に除去するため、カフ装着後、抗c-fms抗体、抗PDGF β 受容体抗体、及び対照IgGを、それぞれ1mg/日を連日2週間腹腔内に投与した。抗c-fms抗体を投与したマウスでは、対照IgG投与群に比べてマクロファージの浸潤が特異的に抑えられたと同時に、平滑筋細胞が増加していた。一方抗PDGF β 受容体抗体を投与したマウスでは、カフ装着部位におけるマクロファージの浸潤は対照IgG投与群に比較してむしろ増加しており、逆に平滑筋細胞は減少していた。また、対照IgG投与群に比較して、抗体投与群では病変面積は有意に減少していた。さらに、これらの抗体投与群では、病変部の骨髄由来細胞は、対照IgG投与群に比べて有意に減少していた。

以上の研究は、血管傷害後の骨髄由来細胞の役割の解明に貢献し、傷害血管再狭窄の予防ならびに治療法の開発に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16年2月10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。