

(105)

氏名(生年月日)	アサ 浅 野 リュウ 竜 太
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第1730号
学位授与の日付	平成9年3月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	家兎大動脈バルーン傷害後の平滑筋細胞増生とフェノタイプの経時的変化の 検討—培養平滑筋細胞に対するアンチセンス非筋ミオシン重鎖オリゴヌク レオチドの増殖抑制効果—
論文審査委員	(主査) 教授 細田 磋一 (副査) 教授 小林 慎雄, 高桑 雄一

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

冠動脈形成術後の再狭窄の機序の一つに内膜へ遊走した血管平滑筋細胞(SMC)の増生の関与がある。本研究では、家兎大動脈のバルーン傷害(BI)モデルにおけるSMCの増生部位とフェノタイプの経時的変化を検討した。さらに、培養細胞を用いて合成型SMCの分子メーカーの一つである非筋ミオシン重鎖の合成をアンチセンス法によって抑制し、SMCの遊走増殖に及ぼす影響について検討した。

〔方法〕

家兎の腹部大動脈に4F Fogarty カテーテルを用いてBIモデルを作製し、1, 2, 4, 8, 12週後各時期における光顕での内膜最大肥厚部の厚さ、proliferating cell nuclear antigen(PCNA)免疫組織化学染色による核内染色陽性細胞の比率および透過型電顕によるSMCのフェノタイプ判定を行った。さらに内膜を内腔側と内弾性板側に二分し、それぞれの側におけるPCNA陽性率と合成型SMCの比率を判定した。また explant 法により培養した家兎の大動脈中膜SMCに対してアンチセンス非筋ミオシン重鎖オリゴヌクレオチド(antisense NMM)、コントロールとしてそれと相補的配列のオリゴヌクレオチド(sense NMM)を導入し、72時間培養後の細胞数、連続ビデオ録画から求めた遊走距離を比較した。antisense NMMがSMCの収縮型から合成型へのフェノタイプ変換を抑制するかどうかを評価するため enzyme disperse 法による培養も

を行い、antisense NMMもしくはsense NMMを作用させ3日後の透過型電顕による観察を行った。

〔結果〕

1. BIモデルの各時期における内膜の厚さは、4週後まで持続して肥厚し、内膜のPCNA陽性率はバルーン後早期に高く、その後経時的に減少した。内膜SMCの合成型の比率は1週後100%から徐々に低下し、中間型、収縮型は2週後から徐々に増加した。増生した内膜を内腔側と内弾性板側に分けた検討では、4週後の合成型の比率は内弾性板側よりも内腔側で高率であったが、PCNA陽性率は内腔側より内弾性板側で高かった。また4週後の免疫電顕による観察では、内膜の内弾性板側に中間型を呈するPCNA陽性細胞が認められた。

2. 培養SMCの増殖はantisense NMM導入によって濃度依存性に抑制されたが、ビデオ記録から求めた単位時間あたりの遊走距離、透過型電顕からみたSMCのフェノタイプにはantisense NMM, sense NMM間に有意差は認められなかった。

〔考察〕

BIモデルでは早期より新生内膜で合成型SMCが増殖し、その結果内膜の肥厚が生じていたが、傷害後4週には内膜の内弾性板側において中間型SMCの増殖(delayed proliferation)が認められた。antisense NMMは培養SMCの細胞数増加を抑制したが、遊走能、フェノタイプ変換抑制効果は認められなかった。

〔結論〕

PTCA 後の再狭窄病変の形成過程において平滑筋細胞の delayed proliferation の関与している可能性

が示唆された。また、antisense NMM は平滑筋細胞の増殖を抑制し、再狭窄予防に有用となり得る方法であると思われた。

論文審査の要旨

本研究の目的は、冠動脈形成術後の再狭窄の機序の中血管平滑筋 (SMC) の増殖について検討するために、家兎大動脈のバルーン傷害モデルで SMC の増生部位とフェノタイプの経時的变化を調べ、非筋ミオシン重鎖の合成をアンチセンス法によって抑制し増殖への影響をみることである。

家兎腹部大動脈に 4F Fogarty カテーテルを用いて、バルーン傷害モデルを作製し 1~12 週までの組織所見で、内膜最大肥厚部の厚さ、proliferating cell nuclear antigen 免疫組織化学染色による核内染色陽性細胞の比率とフェノタイプ判定を行い合成型 SMC の比率を調査した。バルーン傷害後 4 週間まで内腔は肥厚し、PCNA 陽性率は早期に高く合成型 SMC の比率は 1 週後 100% で徐々に低下した。一方、中間型、収縮型は 2 週後から徐々に増加した。4 週後の合成型 SMC の比率は内腔側で高く、PCNA 陽性率は内腔側よりも内弾性板側で高かった。培養 SMC の増殖はアンチセンス NMM 導入により、濃度依存性に抑制され、ビデオ記録での単位時間あたりの遊走距離は差がなかった。PTCA 後の再狭窄形成過程では、平滑筋の delayed proliferation が関与する可能性が示唆され、アンチセンス NMM は平滑筋増殖抑制に有用となりえる方法と判断される。

主論文公表誌

家兎大動脈バルーン傷害後の平滑筋細胞増生とフェノタイプの経時的变化の検討—培養平滑筋細胞に対するアンチセンス非筋ミオシン重鎖オリゴヌクレオチドの増殖抑制効果—

東京女子医科大学雑誌 第66巻 第11号
917-928頁 (平成8年11月25日発行) 浅野竜太

副論文公表誌

- 1) 急性心筋梗塞の risk stratification—左心機能からみた予後とリスク—, 呼と循 43(7): 661-669 (1995) 浅野竜太, 住吉徹哉
- 2) アンチセンス非筋ミオシン重鎖オリゴヌクレオチドの培養血管平滑筋細胞の遊走, 増殖に及ぼす影響. 日本心臓血圧研究振興会平成4・5年度業績集: 19-23(1994)堀江俊伸, 浅野竜太, 小林秀樹, 迫村泰成, 癸生川恵一, 小澤典行, 細田瑛一

- 3) ¹²³I-BMIPP ダイナミック SPECT を利用した心筋血流と脂肪酸の同時評価. 核医学 32(1): 19-29 (1995) 小林秀樹, 浅野竜太, 井上征治, 岡俊明, 百瀬 満, 一方井裕子, 住吉徹哉, 松本延介, 堀江俊伸, 日下部きよ子, 細田瑛一
- 4) ¹²³I-MIBG 心筋シンチグラフィの下壁評価法の検討—SPECT 像と planar 像の比較—. 核医学 32(2): 205-209 (1995) 小林秀樹, 百瀬 満, 柏倉健一, 松本延介, 齊藤克己, 浅野竜太, 細田瑛一, 日下部きよ子
- 5) ^{99m}Tc-tetrofosmin 運動負荷心筋シンチグラフィを用いた心筋 viability の評価—再静注²⁰¹Tl心筋シンチグラフィとの比較—. 核医学 32(4): 367-375 (1995) 小林秀樹, 河口正雄, 岡 俊明, 井上征治, 半田 淳, 浅野竜太, 松本延介, 住吉徹哉, 細田瑛一, 日下部きよ子