

# 吉岡 努 論文内容の要旨

主論文

## Examination of Rat Carotid Artery Models with Twice-Induced Arterial Balloon Injuries: Observation of intimal hyperplasia, focusing on the transformation of vascular smooth muscle tissue

(ラット頸動脈 2 回血管損傷モデルの検討  
血管平滑筋の形質転換に注目した内膜過形成の観察)

(ACTA MEDICA NAGASAKIENSIA in press, 2009)

共著者: 吉岡 努、北川直毅、林 健太郎、永田 泉

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻  
(指導教授: 永田 泉教授)

### 緒 言

近年、冠動脈疾患をはじめ下肢動脈、頸動脈の狭窄にたいするステント留置術は急速な発展が認められる。これに伴いステント留置術後の再狭窄に対する研究も進んでいる。このためステント留置術後の再狭窄は、バルーンを用いた血管損傷後の狭窄と同様に血管平滑筋細胞 (SMC) 増殖が主体であることが明らかになった。ステント留置後の再狭窄に対し drug eluting stent の出現もあるが、その問題点も多く認められ今後のステント留置術後の再狭窄に対する研究の必要性は増大することが予想される。実際の血管狭窄病変に対する治療後の再狭窄モデルを想定した場合、増殖型 SMC の存在下でおこる再狭窄の状態を作ることが必要であると考えた。そこで、バルーンを用いた血管損傷を施行し、内膜過形成を生じた後、再度血管損傷を加え観察した。これにより実際のステント留置あるいは血管形成術後の再狭窄病変に近い狭窄病理所見を確認できたので報告する。

### 対象と方法

生後 11 週齢のウイスターラットを使用し、初回の頸動脈損傷を行いその 14 日後に再度動脈損傷を加えた。全身麻酔管理下に手術を行った。前頸部正中切開を行い総頸動脈が透見できるところまで剥離する。左または右鼠蹊部に皮膚切開を加え腸骨動脈・静脈を露出。腸骨動脈を剥離しその遠位端を結紮し、バルーンカテーテルを挿入。左総頸動脈にバルーンカテーテルを誘導する。バルーンカテーテルを左総頸動脈遠位端に留置し、バルーンカテーテルを拡張し近位側までひく。バルーンカテーテルを収縮し、総頸動脈分岐部まで進める。この作業を 3 回繰り返した。2 回目の損傷は反対側の腸骨動脈より同様の処置を行う。標本の摘出は初回と 2 回目頸動脈損傷のそれぞれ 3、5、7、10、14 日後に標本を摘出。摘出標本を H&E 染色し内膜過形成の経時的変化を内膜・中膜の面積を計測し内膜・中膜の面積を NIH image を用いて計測した。増殖細胞の検出に proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 染色を行い陽性細胞の局在の観察を行った。また SMC 由来の細胞の検出及び局在の観察のために smooth muscle-specific myosin heavy chain (MHC) isoform : SM1, SM2 染色、nonmuscle-type MHC (NMHC) isoform : SMemb /NMHC-B 染

色を行った。

## 結 果

H&E 染色の結果、1回及び2回の血管損傷標本に内膜の肥厚が出現し損傷後14日で最大の肥厚を認めた。NIH imageにて内膜・中膜の面積を測定し、1回損傷後標本と2回目損傷後14日後の標本との比較を行うと中膜の面積は1回損傷血管の方が2回損傷後血管よりも統計学的に有意に高値を示した。一方、内膜の面積は2回損傷血管の方が1回損傷後血管よりも統計学的に有意に高値を示した。内膜/中膜の比も2回損傷血管の方が1回損傷後血管よりも統計学的に有意に高値を示した。

PCNA 染色：損傷血管内膜で陽性細胞が多数発現していた。非損傷血管での発現は認めなかった。血管損傷後の内膜過形成の増殖細胞を同定できた。

SM1 染色：非損傷血管・損傷血管ともに常に中膜、内膜過形成部に発現している。

SM2 染色：非損傷血管に発現し、1回損傷血管ではほとんど陰性だった。

SMemb /NMHC-B 染色：非損傷血管では陰性。1回損傷血管では中膜と内膜に発現していた。2回損傷血管では内膜のみに陽性細胞を認めた。

## 考 察

今回、血管損傷モデルの観察に内膜の増殖細胞である SMC の観察を行った。SMC は形質変換に応じて分子マーカーの isoform が変化する。smooth muscle MHC isoform には SM1、SM2、SMemb/NMHC-B が存在することが分かっている。さらに SMC は収縮型 (SM1, SM2) と合成型 (SMemb/NMHC-B) に分類される。収縮型の SMC は正常の中膜に認められ、血流調節機能を有する。合成型の SMC は胎児期の血管や培養条件下で認められる。また動脈硬化巣内膜や冠動脈再狭窄病変の新生内膜内の SMC で認められる。また合成型の SMC は収縮能を有さないが遊走能・増殖能・多数の結合織産生能があり変性タンパク質を取り込み泡沫化する。またタンパク質や細胞外マトリックスの分泌が盛んである。SMC は細胞周期の変化や物理的・化学的变化に応じてどちらかのタイプに変化すると考えられている。成熟過程では SMC は合成型から収縮型へと分化する。一方、動脈硬化や冠動脈再狭窄といった病態では収縮型から合成型へと脱分化する。SMC はこの2つのタイプを可逆的に変化できるという報告もある。

今回の観察の結果ではこれまでの報告同様に損傷前の正常血管では SM1、SM2 が確認され、SMemb/NMHC-B は陰性だった。また SM1 は正常血管及び血管損傷後血管で常に発現していた。一方 SM2 は1回の血管損傷によりほとんど陰性化を認めた。しかし2回の血管損傷では内膜での陰性化は引き続き認められたが、中膜では陽性細胞の再出現が認められた。中膜の面積は1回の血管損傷標本よりも2回の損傷血管の方が減少していた。この結果は2回の血管損傷の標本では一般の動脈硬化病変における positive remodeling の所見との類似が示唆された。SMemb/NMHC-B は1回の損傷血管の中膜及び内膜にて観察された。一方、2回の血管損傷血管では内膜のみに確認された。また損傷血管の内膜では PCNA 染色陽性細胞が多数出現していた。さらに内膜の面積は1回の損傷よりも2回の損傷血管のほうが大きかった。以上をまとめると1回の血管損傷標本では中膜及び内膜の同時の反応が出現していた。一方、2回の血管損傷標本では内膜の著しい細胞増殖とともに中膜の positive remodeling の同時存在、つまり動脈硬化病変の内膜過形成や PTA やステント留置後の再狭窄病変である内膜過形成の病変に類似する所見が得られた。この2回の血管損傷血管モデルは今後の内膜過形成病変の研究に有益であることが示唆された。