

## 審査の結果の要旨

氏名 佐原 真

本研究は、ラット肺高血圧モデルの病的肥厚した肺動脈病変に対する骨髓由来細胞の関与の有無を、体血圧系の動脈硬化病変と比較しながら検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 野生型のSprague-Dawleyラットに致死量の放射線を照射し、直後にGFPトランスジェニックラット由來の大量の骨髓細胞を輸注して、血球細胞など骨髓由來細胞のみ緑色(GFP)の蛍光を発する骨髓キメララットを作成した。これら骨髓キメララットの骨髓置換率は、平均±標準偏差（以下同じ）で $89.0 \pm 6.8\%$ と高率であった。
2. 1の骨髓キメララットに対して、片肺部分切除(USP群)、monocrotalineの経腹膜的投与(MCT群)、あるいは片肺部分切除+monocrotaline投与(MCT+USP群)をそれぞれ施行して、各々肺高血圧モデルを作成した。4～5週間後、特に後二群において著明な肺高血圧が認められ、肺組織標本においては血管周囲に多数のマクロファージ(GFP陽性)の浸潤を伴い著明に中膜の肥厚した肺細動脈が認められた。蛍光二重免疫染色法による解析では、これら病的肺細動脈におけるCD31陽性内皮細胞中に占めるGFP/CD31二重陽性内皮細胞の割合はMCT群とMCT+USP群を合わせて $1.5 \pm 0.7\%$ と少なかったが、(病的肺細動脈の) $\alpha$ -SMアクチン陽性中膜平滑筋細胞中に占めるGFP/ $\alpha$ -SMアクチン二重陽性平滑筋細胞の割合は二群合わせて $0.11 \pm 0.12\%$ とさらに僅かであった。
3. 一方、1の骨髓キメララットに対して、その大腿動脈をワイヤーの血管内挿入により機械的に傷害した。傷害された大腿動脈には新生内膜の増殖による著明な肥厚病変が認

められ、病変部の新生内膜や中膜は $\alpha$ -SMアクチン陽性平滑筋細胞で占められた。この傷害大腿動脈の肥厚病変における、 $\alpha$ -SMアクチン陽性平滑筋細胞中に占めるGFP/ $\alpha$ -SMアクチン二重陽性平滑筋細胞の割合は15.4±10.3%と高率であった。

4. 放射線非照射の老齢野生型ラットに対して、片肺部分切除とmonocrotalineの経腹膜的投与を施行後に、幼若GFPラット由来の骨髓細胞を最大で1億個(x4回)静注した。この系においても著明な肺高血圧と肺細動脈の肥厚が認められたが、幼若同種骨髓細胞の投与が、悪化した肺血行動態や生存率の改善に寄与することはなかった。また幼若骨髓細胞が、傷害された肺細動脈に定着して血管内皮細胞や中膜平滑筋細胞に形質転換している所見も皆無であった。

5. Monocrotaline投与後のラット肺微小血管床においては、血栓性閉塞が時間経過とともに高頻度に認められ、また病的に肥厚した肺細動脈の内皮細胞の一部にアポトーシスを来している所見がやはり時間経過とともに増加して認められた。アポトーシスを含む肺血管内皮傷害とそれに続く肺微小血管床における広範な血栓性閉塞は、著明な肺血管抵抗の増大を生み、閉塞部より近位の肺細動脈は末梢からの圧負荷増大に対して中膜肥厚で反応すると考えられる。このような体血圧系の動脈硬化とは異なった、(肺細動脈における)病的血管リモデリングの過程が、骨髓由来細胞の各血管リモデリングへの関与の相違と関連することが示唆された。

以上本論文は、流血中の骨髓由来細胞が、体血圧系の動脈における機械的傷害後の動脈硬化病変形成に平滑筋様細胞への形質転換を介して関与するのに対し、monocrotalineと肺部分切除術により誘発される肺高血圧時の病的肺動脈リモデリングにはほとんど関与しないことを明らかにした。心血管病の原因となる動脈硬化病変に集積している平滑筋細胞

の起源がどこにあるかという問題は、心血管病に対する新たな治療ターゲットの開拓という面からも重要である。本研究はこれまで未知に等しかった、肺高血圧時の肥厚肺動脈病変に対する骨髓由来細胞の役割の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。