

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 梶田 昌裕

論文題目 門脈圧亢進症における血管外膜常在型マクロファージの病態生理機構

門脈圧亢進症は一般に肝臓内の血流抵抗増大に起因する疾患で、内臓動脈の拡張による門脈域への流入血液量の増加が病態形成に重要な役割を果たす。この内臓動脈の拡張に、一酸化窒素(NO)が関与すると考えられているが、その詳細は不明である。一方、3種のNO合成酵素(nNOS、iNOS、eNOS)のうち、iNOSはLPSやサイトカインの刺激により、マクロファージ(M ϕ)などに発現して大量のNOを生成し、細胞障害や著しい血管弛緩反応を引き起こす。また、近年、他の血管病変において、血管外膜から多くのNOが産生されることが示され、その病態生理的役割が注目されている。本研究ではこれらを背景として、門脈圧亢進症における血管外膜の常在型M ϕ とiNOS発現について研究をすすめた。さらに、肝硬変性門脈圧亢進症モデル動物において、HMG-CoA還元酵素阻害薬であるスタチンは肝臓でのNO産生を増加させ、肝内血流抵抗を低下させる。しかし、一方で内臓動脈の拡張に対するスタチンの作用についてはこれまでに検討されていない。そこで、血管壁のiNOS発現に対するスタチンの作用も検討した。

結果および考察

1.血管外膜常在型M ϕ の活性化と血管平滑筋機能

健常ラットより摘出し内皮を剥離した腸間膜動脈と肝外門脈を器官培養し、LPSを処置して外膜の常在型M ϕ に対する影響を観察した。結果、LPSを処置した両血管においてiNOSのmRNA発現が増加し、産生されるNO量も増加した。また、LPSを処置した両血管で外膜の常在型M ϕ がiNOSを発現することが明らかになった。さらに、腸間膜動脈の常在型M ϕ は、LPSの刺激によりラウンド化した(一般にM ϕ の活性化を示唆する)。

次に、両血管の発生収縮張力を測定したところ、LPSで刺激した内皮剥離腸間膜動脈では、NO依存的に発生収縮張力が減弱した。一方、肝外門脈においては、LPSで刺激しても発生収縮張力は減弱しなかった。

上記の結果をふまえ、腸間膜動脈と肝外門脈の血管平滑筋組織の収縮反応に対するNOドナーの作用を比較した。結果、肝外門脈は腸間膜動脈に比べ弛緩しにくく、NOに対する感受性が低いことが明らかとなった。また、同様に膜透過性cGMPの作用を比較したところ、肝外門脈は腸間膜動脈に比べcGMPに対する感受性が低いことが明らかとなった。さらに、平滑筋細胞内Ca濃度に対するNOドナーの作用を検討したところ、肝外門脈平滑筋細胞においては、NOドナーは細胞内Ca濃度の上昇をほぼ抑制しなかった。

2. 門脈圧亢進症モデル動物

門脈圧亢進症モデル動物として胆管結紮(BDL)ラットを用い、内臓血管における血管外膜常在型 M ϕ の活性化について検討した。結果、BDL 群の腸間膜動脈および肝外門脈で、iNOS の mRNA 発現量が、疑似手術群に比べ優位に上昇し、両血管からの産生 NO 量も増加していた。さらに、BDL 群の腸間膜動脈では、常在型 M ϕ はラウンド化し、またその数が有意に増加しており、さらに、滲出型 M ϕ も数多く出現していた。一方、BDL 群の肝外門脈の外膜でも常在型 M ϕ の数が有意に増加しており、滲出型 M ϕ も多数出現していた。さらに、BDL 群の両血管において血管壁の M ϕ が iNOS を多く発現していた。

3. HMG-CoA 還元酵素阻害薬の血管壁 iNOS 発現への作用

器官培養法を用いて、LPS 刺激による血管壁の iNOS 発現に対するスタチンの作用を検討した。Fluvastatin の前処置により、iNOS mRNA と iNOS タンパク質の発現はさらに上昇し、この作用は mevalonolactone を共処置することで打ち消された。また、培養上清中の NO 量を定量したところ、LPS を単独処置した標本に比べ、fluvastatin を全処置した標本ではその産生量が増加していた。

以上の結果をまとめると、門脈圧亢進症モデルラットにおいて、肝門脈と腸間膜動脈の両血管で外膜常在型 M ϕ が活性化し、iNOS を発現して NO を産生することを明らかにした。また、産生された NO によって腸間膜動脈は拡張し循環亢進状態となり、門脈域への流入血液量が増加して病態を増悪させる可能性を示唆した。一方、肝門脈平滑筋は cGMP に対する感受性が低く細胞内 Ca 濃度の低下が起こらないため、弛緩しにくく、これが門脈圧亢進状態を引き起こすもう 1 つの要因となる可能性が示唆された。さらに、スタチンは、メバロン酸産生を阻害することで器官培養モデルにおいて血管壁の iNOS 発現を促進することを明らかにした。

以上のように本研究は、門脈圧亢進症における血管外膜常在型マクロファージの病態生理機構を明らかにしたものであり、学術上寄与するところは少なくない。よって審査員一同は本論文が博士（獣医学）の学位に値するものと判断した。