

氏 名（本籍）	いし 石 やま 山 とも 智 はる 敏
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 第 2786 号
学位授与年月日	平 成 7 年 9 月 13 日
学位授与の条件	学位規則第4条第2項該当
最 終 学 歴	昭 和 61 年 3 月 25 日 東北大学医学部医学科卒業
学位論文題目	放射線誘発性の血管損傷に関する免疫組織化学的, 電子顕微鏡学的検討

（主 査）

論文審査委員	教授 松 野 正 紀 教授 田 林 暁 一
	教授 高 橋 徹

論文内容要旨

目 的

三層構造を有する大型の動脈は発達した筋性・弾性の血管壁を持つことから、動脈系の中では放射線による影響を比較的受けにくいと言われてきた。しかし、悪性腫瘍に対する治療目的で放射線照射を行った場合、長い年月を経てから照射野の動脈に狭窄や閉塞をきたすことがある。病変の発生機序については大枠を定めたモデルが提出されているが、*in vivo*で照射後に血管壁を構成する細胞がどのような反応を示すかは不明な点が多い。そこで、X線照射後の血管の細胞動態を免疫組織化学的、電子顕微鏡学的に検討した。

対 象 と 方 法

体重2 kg前後の雄の家兎（日本白色種）を対象として、以下の二群を作製した。

①単独照射群：普通食で飼育した家兎を用いてペントバルビタール静注麻酔下で、右大腿部に45GyのX線を一回照射した。反対側大腿部は鉛板で遮蔽して、X線非照射の内部コントロールとした。

②コレステロール負荷群：1%コレステロールウサギ食で四週間飼育した家兎に同様の方法で45GyのX線を一回照射した。

いずれの群も照射後一日、一週間、一ヶ月、三ヶ月目に2羽ずつ殺処分を行い、両側大腿動脈を採取した（単独照射群のみ六ヶ月目も作製）。固定後、パラフィンに包埋・薄切し、各種染色を行った。免疫染色として、細胞同定（ α アクチン、ウサギマクロファージ）や増殖因子（bFGF, PDGF）、細胞増殖（PCNA）、基質（コラーゲンI, III型）を対象とした染色をABC法で行った。

また、両群とも照射後一日目の家兎に殺処分を行い（各々1羽）、両側大腿動脈を採取した。固定後に動脈を縦切し、処置を施し走査型電子顕微鏡にて血管内腔面を観察した。

結 果

X線単独照射群では、内皮細胞には照射後一日目にbFGFの発現を一部で認めた。走査電顕では剥脱までには至らず、破裂像や白血球の接着・侵入が部分的に見られる程度であった。また、中膜筋細胞には照射後一日目から三ヶ月目まで空胞化やPCNA, bFGFの発現を認めたが、細胞の壊死や構造の大きな変化は見られなかった。結局、照射後六ヶ月目でも照射側血管の狭窄や閉塞には至らなかった。

一方、コレステロール負荷群では、照射後一日目より単球様細胞の内皮細胞への接着および内皮細胞下への侵入が見られた。この細胞は抗ウサギマクロファージ抗体に対して陽性で、一週間目にはマクロファージの増殖による内膜肥厚が明らかとなった。照射後一ヶ月目には泡沫細胞を中心とした内膜肥厚による狭窄が見られ、肥厚部にはマクロファージと平滑筋細胞とが混在した。そして三ヶ月目には内膜肥厚による著明な狭窄を認めたが、動脈瘤状の拡張を呈する部分も存在した。内膜肥厚部は fibrous cap を有し、コレステリン裂隙の形成や壊死、石灰化が見られた。また、中膜では菲薄化や内弾性板の断裂が認められた。

考 察

今回、両実験群ともに認めたのは、剥脱には至らない程度の内皮細胞傷害と、中膜筋細胞の空胞化や PCNA, bFGF の発現であった。

単独照射群で明らかな病変形成に至らなかった理由としては、内皮細胞・平滑筋細胞とも *in vivo* では turn over が遅いため、放射線感受性が予想したよりも低い可能性があげられる。平滑筋で見られた PCNA の発現も DNA の修復過程は意味するものの、その後の分裂や増殖には直接結びついていないとも考えられる。

一方、コレステロール負荷群では、内皮細胞の傷害により透過性亢進が生じ、血清中の脂質成分の血管壁への流入と共に単球の接着や侵入、マクロファージへの変化が起こったものと思われる。

マクロファージは酸化 LDL を取り込み泡沫細胞となり、分解酵素を産生して周囲の基質を破壊したり、増殖因子を産生して中膜平滑筋細胞の増殖や内膜への遊走を促す。

これらの結果として、照射後三ヶ月目にはヒトの動脈硬化病変（複合病変）に類似した像に至ったと考えられる。

以上より、X線単独照射による血管変化は高度ではなく、明らかな病変形成に至るには今回採用した高コレステロール血症のような promotor となる因子の存在が必要であると考えられた。

審査結果の要旨

悪性腫瘍の治療における照射療法は未だにその一翼を担っている。これによる血管傷害発生についての考察は少ない。また臨床的意義も大きいことを前提とした論文である。

三層構造を有する大型の動脈は放射線による影響を受けにくいと言われているが、治療目的で放射線照射を行った場合、長い年月を経てから狭窄や閉塞をきたすことがある。病変の発生機序については不明な点が多く、この論文では X 線照射後の血管壁の細胞動態を免疫組織化学的、電子顕微鏡学的に検討している。

動物モデルとして体重 2 kg 前後の雄の家兎（日本白色種）を用いており、①単独照射群として、普通食で飼育した家兎の右大腿部に 45Gy の X 線を一回照射。反対側は遮蔽して非照射の内部コントロール。②コレステロール負荷群として、1%コレステロール食で四週間飼育した家兎に同様の方法で照射。両群とも照射後一日、一週間、一ヶ月、三ヶ月目に殺処分を行い、両側大腿動脈を採取して染色を行っている（単独照射群のみ六ヶ月目も作製）。免疫染色にて、細胞同定（ α アクチン、マクロファージ）や増殖因子（bFGF, PDGF）、細胞増殖（PCNA）、基質（コラーゲン I, III 型）を観察している。照射後一日目に別の家兎から大腿動脈を採取し、走査型電子顕微鏡を用いて血管内腔面を観察している。

単独照射群では、内皮細胞には照射後一日目に bFGF の発現を一部に認めたが、走査電顕では剥脱までには至らず、破裂像や白血球の接着・侵入が部分的に見られた程度とし、中膜筋細胞には照射後三ヶ月目までに空胞化や PCNA, bFGF の発現を認めている。しかし、照射後六ヶ月目でも照射側血管の狭窄や閉塞には至らなかったとしている。コレステロール負荷群では、照射後一日目より単球様細胞の内皮細胞への接着や内皮細胞下への侵入が見られたとし、一週間目にはマクロファージの増殖を主とした内膜肥厚が明らかとなり、さらに増殖因子の発現や泡沫化、平滑筋細胞の遊走なども伴い、照射後三ヶ月目にはヒトの動脈硬化病変と類似した像を呈し、狭窄と共に瘤状の拡張も見られたとしている。

以上のような観察から、X 線照射単独による血管変化は高度ではなく、明らかな病変形成に至るには今回採用した高コレステロール血症のような promotor となる因子の存在が必要であると結論づけている。

本研究の特徴と独創性は、①X 線照射後の血管壁の細胞動態を初めて in vivo で免疫組織化学を用いて検討 ②X 線照射単独では従来言われたような血管変化は生じ難く、病変形成には付加因子が不可欠であることを証明 ③コレステロール負荷群ではヒトの動脈硬化と極めて類似した病変を作製でき、動脈硬化の成立に関して示唆を与えたなどの点である。よって医学・医療への貢献するところ大であり、よって学位に値するものである。