

氏 名（本籍） あき もと ひろ し
秋 元 弘 治

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 3 1 0 2 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 10 年 9 月 9 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 59 年 3 月 27 日
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 Antibody to VLA-4 reduces macrophage infiltration, medial smooth muscle cell proliferation and intimal lesion development in post transplant arteriopathy.

（移植後血管病変における抗 VLA-4 抗体の効果：
マクロファージ遊走抑制と中膜血管平滑筋細胞増殖抑制効果による内膜病変の減少）

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 田 林 暁 一 教 授 里 見 進

教 授 藤 村 重 文

論文内容要旨

【目 的】

心臓移植後の血管病変は移植を受けた患者の長期予後の上で最重要な課題である。免疫的な内皮損傷がサイトカインや白血球接着因子を介して炎症細胞や血管平滑筋細胞が内膜に遊走増殖させ内膜病変を完成させると考えられているが、その詳細は充分解明されていない、我々は白血球接着因子の一つである VLA-4 に対する抗体が移植後血管病変に与える効果を兎の頸動脈同所性移植の実験モデルを用いて検討した。

【方 法】

兎の頸動脈の同所性移植の実験モデル (Donor : New Zealand White rabbit ; Recipient : Stauffland rabbit) で、以下の 3 群を無作為に作成した。Group1 (n=8) は生食投与群、Group2 (n=4) は non-functional な同種抗体 1E6 (2 mg/kg) 投与群でこれら 2 群を対照群とした。Group3 (n=12) は抗 VLA-4 抗体 HP1/2 (2 mg/kg) を使用して治療群とした。予備実験において移植後 3 週間で評価可能な血管病変が作成できたため、移植後 4 日目から静注にて投与を開始し隔日毎に計 7 回行い、移植後 21 日目にグラフトを摘出した。評価は次の 3 点で行った。内膜病変の程度は、内膜面積を中膜面積で除した、内膜/中膜比で表した。また遊走増殖した細胞をそれぞれ特異的な免疫染色法により染色し、内膜及び中膜におけるマクロファージ、T-リンパ球、PCNA 陽性となる増殖細胞、内膜における血管平滑筋細胞 (SMC)、中膜における PCNA 陽性平滑筋細胞、さらに内膜の総細胞数をカウントし、それらを実数と共に単位面積当たりの細胞数 (細胞密度 : cells/mm²) を算出して比較検討した。また内膜、中膜における vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) の発現を none から severe の 4 段階で評価し各群で比較した。VCAM-1 発現の評価は独立した 3 人が個別に行い最終的な値とした。全ての値は mean ± SEM で表し、Mann-Whitney U test を用いて統計学的検索を行った。

【結 果】

移植後 21 日目の摘出時全グラフトは開存していた。対照群 (Group1 及び 2) のグラフトでは内膜、中膜及び外膜に炎症細胞浸潤を伴った著しい内膜肥厚が認められたが、抗 VLA-4 抗体を投与した治療群 (Group3) では明らかに内膜肥厚が抑制されていた。内膜中膜比は対照群に比し治療群で有意に減少し (Group1 : 50.5±9.3%, Group2 : 37.0±7.3%, Group3 : 17.9±5.4%), 抗 VLA-4 抗体は内膜増殖を抑制した。また治療群においては内膜及び中膜におけるマクロファ-

ジの実数及び細胞密度は対照群に比し有意に低く（内膜マクロファージ細胞密度 cells/mm² ; Group1 : 509.5±157.6, Group2 : 432.4±153.2, Group3 : 144.5±52.5), T-リンパ球の実数及び細胞密度は中膜でのみ有意に減少を示した。しかし内膜における SMC 及び総細胞密度は治療群において逆に有意に増加していた（内膜 SMC 細胞密度 cells/mm² ; Group1 : 312.8±68.5, Group2 : 321.3±124.6, Group3 : 1026.0±270.5）。増殖を示す PCNA 陽性細胞は中膜において治療群と同種抗体群間で有意差を認めた。特に中膜の PCNA 陽性 SMC 数は治療群で対照群と比し有意に低値を示し、抗 VLA-4 抗体により中膜における SMC の増殖あるいは賦活化が抑制されていた。VCAM-1 の発現は内膜において差はなかったが、中膜における発現は減少しており、特に発現形式では対照群では中膜が瀰慢性に染色されるのに対し、治療群では内膜病変に隣接する限局した中膜が陽性に染まっていた。VCAM-1 の発現程度の結果は中膜における白血球の動態や PCNA 陽性 SMC の結果とよく一致していた。

【考 察】

本実験の結果で重要な点は、抗 VLA-4 抗体により移植後の血管病変の内膜及び中膜でマクロファージの遊走が有意に抑制され、さらに内膜病変が抑制されたことである。移植後の血管病変にはマクロファージがより重要な役割を担っていると考えられる。抗 VLA-4 抗体投与群で内膜における SMC 密度と総細胞密度が有意に増加している事は興味深い。抗 VLA-4 抗体は中膜から内膜への SMC の遊走を抑制できないものの、合成型の SMC への形質転換を抑制し細胞外マトリックスの産生を減少させた結果、細胞密度が増加したのではないかと推察される。中膜における増殖 SMC 数や VCAM-1 発現が抑制されていることも、いわゆるマクロファージの動態とよく一致していた。抗 VLA-4 抗体によりマクロファージの遊走が抑制され、マクロファージから放出される IL-1, TNF- α などのサイトカインが減少し、中膜の SMC 増殖や内膜に遊走した SMC による細胞外マトリックス産生が抑制され、結果的に内膜増殖の進展を抑制したものと考えられた。本実験は白血球接着因子に主眼を置き、特に VLA-4/VCAM-1 がマクロファージの動態と移植後血管病変の成因に強く関連していることを示唆した論文であり、心臓移植後の血管病変の予防対策を考える上で重要な知見となると思われる。

審査結果の要旨

本論文は、移植後血管病変の成因とその予防を検討するにあたり、兎の頸動脈の同所性移植の確立したモデルを使って、抗 VLA-4 抗体治療群、同種抗体投与群、生食投与群による 3 群をランダムに作成し実験を遂行している。内膜肥厚の程度を内膜中膜比で表し、また特異的免疫組織染色により染色された各種細胞の内膜や中膜への浸潤は、絶対数のみでなく、各細胞の密度を算出して表している。評価法も科学的で、各群の数値の有意差で結果をとらえることに留まらず、実験における細部の事象を良く観察し、その一つ一つを科学的に考察している論文である。論文の構成もしっかりと整っており、学位に値する。

重症心不全患者の治療法として、今後わが国でも心臓移植が一つのオプションとして選択され、それにより多くの患者の救命がされることを期待するところである。その際、心臓移植医療の突き当たる問題は多々ある中で、移植後の血管病変 (accelerated coronary sclerosis) は重要な課題である。現在世界で行われている心臓移植患者の長期予後 (5 年生存率 : 70%, 10 年生存率 : 50%) を決定している主因がそれである。本実験は移植後の血管病変の成因を白血球接着因子に主眼を置き、特に VLA-4/VCAM-1 がマクロファージの動態と血管平滑筋の動態、そして移植後血管病変の成因に強く関連していることを示唆した論文であり、心臓移植後の血管病変の予防対策を考える上で重要な知見となると考える。