

論文内容要旨

論文題目

A Novel Mouse Model of Aortic Valve Stenosis Induced by Direct Wire Injury

ワイヤー傷害による新しい大動脈弁狭窄症モデルマウス

責任講座：内科学第一講座

氏名：本田晋太郎

【内容要旨】(1,200字以内)

背景

高齢者人口の増加に伴い大動脈弁狭窄症(Aortic valve stenosis: AVS)は増加しており、65歳以上の一般住民の2-4%に罹患を認めると報告されている。AVSの危険因子は血管動脈硬化との類似が指摘されているが、実際はAVS患者の50%が有意な動脈硬化を合併していない。AVSの重要な原因の一つとして弁の開閉に伴う機械的損傷が知られ、近年、傷害に対する組織修復異常が重視されつつある。これまで高脂血症マウスモデルを用いたAVSの成因機序に対する研究が盛んに行われているが、数か月の高脂肪負荷をかけても圧負荷を伴う高度狭窄をきたすものは一部のマウスのみである。また、*in vitro*や*ex vivo*での機械的傷害に対する組織修復についての研究がなされているが、これらのモデルは生理的な血流や血液が欠如しているという問題がある。以上より*in vivo*で大動脈弁傷害を施行し、かつ実際のAVSの病態に近い十分な圧負荷をきたす実験系の確立は、AVSの成因解明と治療法の開発に対する貢献が期待される。本研究では*in vivo*でワイヤーによる大動脈弁直接傷害を施行し、新しいAVSモデルマウスを作製したのでここに報告する

方法

8-10週齢のC57/BL6雄マウスに対し、大動脈弁傷害術を施行した。ヒト冠動脈形成術用ガイドワイヤー(径0.36mm)を、右総頸動脈を通して心臓超音波ガイド下に左室内に挿入し、ワイヤーをスライドおよびスピンさせることで大動脈弁を選択的に傷害した。その後経時的に心臓超音波を用いて大動脈弁口流速および心機能を測定し、組織学的変化を16週間にわたって観察した。また、リアルタイムPCRおよび蛍光免疫染色法によって傷害弁の詳細な解析を行った。

結果

大動脈弁傷害術後1週での心臓超音波検査ではシャム群に比し有意に大動脈弁口流速の上昇を認め、16週間持続した。左室収縮能は経時的に悪化するとともに心重量/体重比は漸増し、心不全を呈した。組織学的検討では、傷害後の大動脈弁は明らかな増殖性変化とコラーゲン沈着を伴う弁肥厚を認め、4週時点において、活性化線維芽細胞、血管新生、マクロファージの浸潤および軟骨様組織が観察された。また、傷害弁では活性酸素の産生と炎症性サイトカインおよび骨軟骨形成因子の発現亢進を認めた。その後時間を経るにつれて組織学的に骨軟骨様変化は成熟傾向を見せ、12週時点で石灰沈着を認めた。

結語

*in vivo*において機械的損傷による大動脈弁の反応を経時的に観察し、重度の圧格差を伴うAVSモデルマウスを作製した。今後本モデルを用いることによりAVSの進展機序の解明および治療の開発につながることを期待される。

平成 25 年 1 月 11 日

山形大学大学院医学研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 本田 晋太郎

論文題目： A Novel Mouse Model of Aortic Valve Stenosis Induced by Direct Wire Injury (ワイヤー傷害による新しい大動脈弁狭窄症モデルマウス)

審査委員： 主審査委員

貞弘 光章

副審査委員

藤井 聡

副審査委員

久保田 功



審査終了日： 平成 25 年 1 月 11 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

高齢化とともに大動脈弁狭窄症(AS)は急激に増加しており、その原因の一つとして弁の開閉に伴う機械的損傷が知られ、近年、傷害に対する組織修復異常が重視されつつある。これまで高脂血症マウスモデルを用いた AS の成因機序に対する研究や *in vitro* や *ex vivo* での機械的傷害に対する組織修復についての研究はなされてきたが、生理的な血流や血液の影響が欠如している問題があった。従来モデルの欠点を補うべく、本研究者は *in vivo* でワイヤーによる大動脈弁直接傷害を施行し、臨床に近い形の新しい AS モデルマウスを作製した。

本研究では、8-10 週齢の C57/BL6 雄マウスに対し、ヒト冠動脈形成術用ガイドワイヤー(径 0.36mm)を、右総頸動脈を通して心臓超音波ガイド下に左室内に挿入し、ワイヤーをスライドおよびスピンさせることで大動脈弁を選択的に傷害した。経時的に心臓超音波で大動脈弁口流速および心機能を測定し、組織学的変化を 16 週間にわたって観察、更に、リアルタイム PCR および蛍光免疫染色法によって傷害弁の詳細な解析を行った。その結果、大動脈弁傷害術後 1 週での心臓超音波検査で有意な大動脈弁口流速の上昇を認め血行動態的な AS を来していた。組織学的にも傷害後の大動脈弁は明らかな増殖性変化とコラーゲン沈着を伴う弁肥厚を認め、4 週時点においては活性化線維芽細胞、血管新生、マクロファージの浸潤および軟骨様組織が観察された。また、傷害弁には活性酸素の産生と炎症性サイトカインおよび骨軟骨形成因子の発現亢進が見られ、さらに時間を経るにつれて骨軟骨様変化は成熟傾向を見せ、12 週時点で石灰沈着を形成していた。

本研究により、*in vivo* において大動脈弁の反応を経時的に観察可能な機械的損傷 AS モデルマウス作製が可能となった。今後 AS の進展機序の解明および治療の開発につながることを期待され、本研究成果は学問的意義のみならず将来的な発展性も大きく、学位(医学)に値するものと判断した。