



Title	Differential expression of proteoglycans biglycan and decorin during neointima formation after stent implantation in normal and atherosclerotic rabbit aortas
Author(s)	山川, 智之
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43097">https://hdl.handle.net/11094/43097</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照ください</a> 。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	山 川 智 之 やま かわ とも ゆき
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 6 5 6 1 号
学位授与年月日	平成13年10月29日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Differential expression of proteoglycans biglycan and decorin during neointima formation after stent implantation in normal and atherosclerotic rabbit aortas. (ステント移植後のウサギ大動脈新生内膜におけるバイグリカン及びデコリンの分布の経時的推移について)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉  (副査) 教授 松澤 佑次 教授 祖父江憲治

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

経皮経血管的冠動脈形成術 (PTCA) 後のステント留置は、PTCA 後の開存率を上げる有効な治療法であるが、ステント留置後に生じる新生内膜形成がもたらす再狭窄は頻度も高く臨床で大きな問題である。この再狭窄に対する病態把握のために、正常血管を傷害し内膜肥厚を誘導するモデルが広く用いられてきたが、実際には PTCA は高度に動脈硬化が進行した血管を対象とするものであり、その血管障害の反応機序は正常血管と異なると考えられる。

ステント留置後形成される新生内膜には種々の細胞外マトリックス (ECM) が存在することが知られている。この ECM は平滑筋細胞によって産生され TGF- $\beta$  によってその産生が促進されるが、最近 ECM の中でデコリン、バイグリカンという 2 種のプロテオグリカンが TGF- $\beta$  と結合し ECM の産生の制御に関わっていることが報告されている。

そこでステント留置後の内膜肥厚の形成機序におけるこれらプロテオグリカンの役割及びその動態を検討するため、ウサギ正常血管及び動脈硬化血管にステントを留置し、免疫組織学的手法と *in situ* hybridization 法により、新生内膜におけるこれらのプロテオグリカン及び関連するサイトカイン、細胞成分の経時的分布の推移につき検討した。

#### 【方法ならびに成績】

成年ウサギを普通餌 (正常血管群) 又は 3 ヶ月間コレステロール含有餌 (動脈硬化血管群) 下に飼育し胸部下行大動脈に self-expandable 型 Gianturco Z ステントを留置した。術後 2 日から 56 日まで経時的に屠殺し標本を摘出し、HE 染色、弾性線維染色及びデコリン、平滑筋のマーカーである  $\alpha$ -actin、マクロファージ (M $\phi$ ) 及び SMC の表現型を同定するためミオシン重鎖アイソフォームである SM1 (成人型+, 胎児型+), SM2 (成人型+, 胎児型-), SMemb (成人型-, 胎児型+) に対する免疫組織染色を行った。また RT-PCR 法を用いて得たウサギのデコリン、バイグリカン、TGF- $\beta$  及び IL-1 $\beta$  cDNA を元にジゴキシゲニン標識 RNA プローブを作製し *in situ* hybridization 法を行った。

正常血管群にステントを留置すると、ステントワイヤーが血管壁を圧排し、このステントワイヤーで傷害された中膜において平滑筋細胞が脱分化・増殖し、ステントワイヤーを薄く覆うように新生内膜が形成された。内膜肥厚の伸展は留置後 14 日でほぼ停止し、その後平滑筋細胞の胎児型から成人型への再分化を認めた。形成された新生内膜は平滑筋細胞に富むが M $\phi$  はほとんど認めなかった。デコリンは外膜のみに認めるのみであった。一方動脈硬化血管群

においては正常血管に比し著明な新生内膜の形成を呈しその伸展は持続した。この新生内膜は正常血管同様平滑筋細胞を多く認めたが、加えてステントの周囲にMφの強い集積が認められ、またデコリンは外膜に加え、ステント周囲にあるMφに隣接するように認められた。

次に *in situ* hybridization 法により、デコリン、バイグリカン及びサイトカインの mRNA の分布を検討したところ、正常血管群では TGF- $\beta$  及びバイグリカン mRNA はいずれもステント留置後7日目にステントワイヤーによって傷害された中膜の周囲に発現し、新生内膜形成が進行した14日目にはステント周囲の新生内膜全体に発現を認めたが、56日目にはいずれの mRNA の発現もほぼ消失した。これらの mRNA は、胎児型平滑筋細胞のマーカーである SMembrin の発現と同様の経時的変化を示した。デコリン及び IL-1 $\beta$  mRNA はほとんど発現を認めなかった。

一方動脈硬化血管群では、ステント留置後7日目にステントワイヤー周囲の新生内膜に、正常血管同様の TGF- $\beta$ 、バイグリカン mRNA の発現に加え、IL-1 $\beta$  mRNA の発現を認めた。56日目には、Mφが産生すると考えられる IL-1 $\beta$  mRNA がステントワイヤー周囲に強く発現、またデコリン mRNA もこの IL-1 $\beta$  の発現に隣接するようにステントワイヤーの周囲に発現を認めた。

#### 【総括】

1) 正常血管及び動脈硬化血管におけるステント留置後のプロテオグリカンの経時的分布につき、ウサギ大動脈ステント留置モデルを用いて免疫組織学及び *in situ* hybridization 法により検討した。2) 動脈硬化血管の内膜肥厚の進展は正常血管に比し著しく、また進展が一時的であった正常血管に対し動脈硬化血管においては56日間持続した。3) 新生内膜におけるデコリンとバイグリカンの発現様式は、前者がMφ、後者が胎児型平滑筋の分布と密接な関連を示した。4) これらの結果からデコリンとバイグリカンは内膜肥厚の形成過程における平滑筋細胞の増殖やフェノタイプ変換に関与していることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、ウサギ大動脈ステント留置モデルを用いて、プロテオグリカンに属する細胞外マトリックス糖蛋白、デコリンとバイグリカンの動態につき、正常血管及びコレステロール含有餌で飼育し動脈硬化病変を形成したウサギ血管において、平滑筋細胞、マクロファージ、TGF- $\beta$  と併せ検討したものである。その結果、バイグリカンの発現は、正常血管の胎児型平滑筋の発現と強い関連性を認める一方で、デコリンは動脈硬化血管において、その発現にマクロファージとの関連性が認められた。

デコリン及びバイグリカンは TGF- $\beta$  と結合しその作用に影響を与えることが知られ、最近では細胞周期の制御にもかかわっているという報告があり、その動態については注目されているが、血管障害後のこれらのプロテオグリカンの動態についてはまだ十分な知見が得られているとはいえない。本論文の特に動脈硬化病変におけるその動態の知見は、今後これらのプロテオグリカンを用いたサイトカインの制御などの臨床応用について非常に重要な基礎を築いた論文と考えられ、学位論文に値すると考えられる。