

氏名(本籍)	さかい 堺	ゆたか 裕(東京都)
学位の種類	博士(医学)	
学位記番号	博甲第2676号	
学位授与年月日	平成13年3月23日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
審査研究科	医学研究科	
学位論文題目	骨髄移植による動脈硬化の治療 —ApoE欠損マウスの実験成果からの考察—	
主査	筑波大学教授	医学博士 山田 信博
副査	筑波大学教授	医学博士 青柳 一正
副査	筑波大学講師	博士(獣医学) 杉山 文博
副査	筑波大学講師	医学博士 范 江 霖

論文の内容の要旨

(目的)

近年、マクロファージに由来するApoEは動脈硬化像の形成や退縮に主要な役割を果たしていることが明らかになってきた。本研究では、動脈硬化の治療法として造血幹細胞を利用し新たなアプローチを見出すため、同種骨髄移植の実験を行った。実験動物としてⅢ型高脂血症のモデルマウスであり、動脈硬化が自然発症するApoE欠損マウスの欠損遺伝子を同種の野生型骨髄細胞で補充することで遺伝子治療と同様の効果を得られることを利用し、実験成績から得た知見より、より安全で実用性の高い治療法を実現するため、最小のキメリズム効果を判定することを目的とした。

(対象と方法)

普通飼料の飼育で、高脂血症と動脈硬化を発生するApoE欠損マウス[ApoE(-/-)]を対象とし、同種の野生型マウス[ApoE(+/+)]の骨髄移植を致死線量相当の950cGyのγ線で、全身照射のもとに行った。移植後骨髄キメラマウスの細胞由来の識別を行い得るように、ドナーマウスCD45抗原の異なるアロコンジェニックマウスを利用した。移植後キメラマウスのキメリズムはFACS解析で求め、同時に血漿コレステロール値(T-Cho値)を経時的に測定した。動脈硬化巣に関しては、適時大動脈を大動脈弁直上より、腹部総腸骨動脈分岐部まで摘出し、一時固定後、縦切開して大動脈切開標本を作製し、オイルレッドOで脂肪染色を行い、写真撮影後、硬化巣を画像検出器で計測した。一方大動脈弁輪部の硬化巣、および肝組織は凍結切片の標本とし免疫組織染色を行った。

(結果)

キメリズムの経時推移を検討するために対照群を含め5群に大別した。各群とも移植後4～6週でキメリズムは固定し、その後42週以上にもわたって安定していた。血漿T-Cho値は、キメリズム100%群、60～70%群は移植後4～6週で野生型血漿T-Cho値の正常値に下降し、その後安定して正常値を維持した。30～40%、10%群は移植後T-Cho値は著明に下降したが、長期の観察では、正常値より若干の高値(198±71mg/dl)を示した。一方キメリズムと血漿T-Cho係は有意な下降直線の相関関係が得られた。また、キメリズムと動脈硬化巣との検討では、10%キメリズム群と対照群[ApoE(-/-)→ApoE(-/-)]との硬化巣を検討したが、Mann-WhitneyのU検

定で有意差を認めた。大動脈弁輪部の泡沫細胞で検討した連続切片の免疫組織染色による標本から、ドナー由来のマクロファージから、機能性のApoEを分泌したと考察されるApoEの免疫組織染色像が観察され、また肝の標本からも、肝細胞にApoE染色細胞にApoE染色像が認められた。

(考察および結語)

Ⅲ型高脂血症のモデルマウスであるApoE(-/-)マウスに同種骨髄移植を行い、骨髄キメラマウスの長期生存モデルを得た。最低10%キメリズムで、長期にわたる安定した血漿T-Cho値の下降が得られ、さらに動脈硬化巣の退縮も実証し得た。10%キメリズムの導入で有効性が証明されたことは、遺伝子治療の際に10%の造血幹細胞に遺伝子を導入すればよいことを示唆しており、現在の遺伝子導入技術でも、十分に可能な値である。さらに近年比較的侵襲な骨髄抑制により骨髄移植を行うミニトランスプラントへの応用も考えられ、臨床応用の可能性が十分に期待できると思われる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

動脈硬化の成因を捕らえ、新たな治療法のアプローチが行われた。同種骨髄移植の実験成績から、造血幹細胞の移植における生着の永続性に着目し、種々のキメラマウスを作成し、各々の部分キメラの有効性を示した。10%キメラに於いても動脈硬化の進展抑制に有効であったとの報告であり、さらに8%キメラの血漿でも明らかなApoE Bandを認めた。動脈硬化と云う慢性で進行性の病態に対し、一旦生着したキメラが永続して有効である点を考えると、本アプローチは慢性病に対し有用と考えられ、価値ある論文である。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。