

氏名(本籍)	しもやまだ ひろ あき 下山田 博 明 (福 島 県)
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	博 甲 第 2638 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	ヒトアポ蛋白(a)遺伝子を導入したトランスジェニックウサギにおける動脈硬化病変の解析
主査	筑波大学教授 医学博士 中 井 利 昭
副査	筑波大学助教授 医学博士 清 水 徹
副査	筑波大学講師 医学博士 青 柳 一 正
副査	筑波大学講師 医学博士 宮 内 卓

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

リポ蛋白(a) [Lp(a)] は動脈硬化の独立した危険因子として広く認められてきている。しかし Lp(a) の特異的な構成蛋白であるアポ蛋白(a) [apo(a)] は、ヒトを含めたごく限られた哺乳類にしか存在せず、動脈硬化研究のための適切な実験動物モデルがなかった。本研究ではヒト apo(a) 遺伝子を過剰発現するトランスジェニックウサギを作製して、apo(a) および Lp(a) の動脈硬化病変進展に及ぼす影響の解明を目指した。

### (対象と方法)

1. 肝臓で発現するマウストランスフェリンプロモーターに apo(a) cDNA を融合し、トランスジェニックベクターを構築した。ヒトアポ蛋白(a) の construct は apo(a) cDNA の全長を含んでいる。精製した apo(a) cDNA 断片をウサギの受精卵にマイクロインジェクションし、トランスジェニックウサギを作製した。ついでにこのウサギの各臓器での apo(a) -mRNA の発現や apo(a) の生成および血漿中 Lp(a) の形成を調べた。
2. つぎにトランスジェニックウサギに高コレステロール食を 16 週間負荷し、Lp(a) の形成の有無、リポ蛋白分画の構成、変動について、コントロールウサギとの比較をした。また動脈硬化病変についてヒトと同様の系統的免疫染色を行い、動脈硬化病変に及ぼす影響について比較検討した。

### (結果)

1. 我々の作製したトランスジェニックウサギでは、ヒト apo(a) は主として肝臓で産生されていて、また血漿中に Lp(a) の形成も認められた。これらにより動脈硬化研究に適した優れた病態モデルであることを証明した。
2. 高コレステロール食負荷により有意にトランスジェニックウサギの動脈硬化が亢進しており、冠動脈の動脈硬化も有意に亢進していた。コントロールウサギの血中コレステロール値との有意差は認められなかった。トランスジェニックウサギの動脈硬化病変の免疫染色により apo(a) と apoB の病変内沈着が確認された。apo(a) および Lp(a) はヒトと同様に動脈硬化病変の細胞外基質に沈着しており、特に病変中心部の小型の紡錘型細胞の豊富な部位に認められた。小型の紡錘型細胞は抗単球-マクロファージ抗体や抗平滑筋細胞抗体には陰性でビメンチンに陽性であり、この細胞が未熟な平滑筋細胞や脱分化した平滑筋細胞である可能性を示した。

#### (考察)

ヒトの動脈硬化病変の病理学的検討により、Lp (a) は動脈硬化の初期病変から局所的に細胞外基質に沈着しており、動脈硬化形成に大きな役割を果たしている可能性が確認された。

Lp (a) は病変内でも細胞密度の高い部位や平滑筋細胞周囲に沈着しており、動脈硬化を直接的に促進する役割や、平滑筋細胞の遊走・増殖・分化に関与していることが示された。

apo (a) トランスジェニックウサギでは血漿中にLp (a) の形成が認められ、Lp (a) の形成が認められ、Lp (a) の *in vivo* での生物学的意義や、動脈硬化病変におよぼす影響を解明する上で優秀な実験動物モデルであると考えられた。このウサギを用いた検討で高コレステロール食負荷により有意に動脈硬化が亢進し、その他のリポ蛋白分画や血漿コレステロール値が変動しないことにより、apo (a) およびLp (a) は動脈硬化を促進することを直接的に証明することができた。その促進の機序については、系統的免疫組織学的検討の結果 apo (a) およびLp (a) は病変内の平滑細胞の増殖・分化等に関与している可能性が示された。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

リポ蛋白 (a) [Lp (a)] は動脈硬化の独立した危険因子として注目をあびているが、適切な実験動物モデルがなかった。本研究では、まずLp (a) 特異的な構成蛋白であるアポ蛋白 a [apo (a)] 遺伝子を過剰発現するトランスジェニックウサギの作製に成功した。ついでこのウサギに高コレステロール食を負荷し、コントロールウサギと比較することによりLp (a)、apo (a) が初期の動脈硬化病変形成・進行に促進的な役割を果たすことを証明した。動脈硬化発生メカニズムのさらなる解明、薬剤開発などに寄与する価値ある研究と評価する。

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。