

氏名(本籍)	池田晃彦(岡山県)			
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第6220号			
学位授与年月日	平成24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	人間総合科学研究科			
学位論文題目	糖尿病合併心筋梗塞マウスにおける血管新生の検討			
主査	筑波大学教授	博士(医学)	島野仁	
副査	筑波大学講師	博士(医学)	大川敬子	
副査	筑波大学講師	博士(医学)	甲斐平康	
副査	筑波大学講師	博士(医学)	酒井俊	

### 論文の内容の要旨

#### (目的)

本研究は、糖尿病を合併する心筋梗塞モデルをマウスで作成し、プロテインキナーゼC (protein kinase C: PKC)- $\beta$  阻害剤の投与によって心筋虚血領域における血管新生の改善の検証ならびにその機序に関わる血管新生因子を検討したものである。

#### (対象と方法)

C57BL/6J 雄マウスを Control 群、ストレプトゾトシンによる DM 群、DM+PKC-I 群の3群に分類した(各群 n=8)。DM 群と DM+PKC-I 群には I 型糖尿病を導入後、冠動脈左前下行枝を結紮し、心筋梗塞を作成した。術翌日より、DM+PKC-I 群には PKC- $\beta$  阻害剤 10 nM を 10 日間腹腔内投与した。術後 4 週間で心臓を摘出した。マッソン・トリクローム染色による心筋梗塞のサイズの測定、抗 CD31 抗体を用いた免疫染色による心筋梗塞周囲領域の微小血管密度 (microvascular density: MVD) を測定している。さらに、ウェスタンブロッティングで VEGF、VEGFR1、2、eNOS を定量している。

#### (結果)

心筋梗塞サイズは各群に統計学的な有意差を認めないものの、心筋梗塞周囲領域における MVD について DM 群が Control 群、DM+PKC-I 群と比較して有意な減少を観察した ( $p < 0.05$ )。VEGF、eNOS の発現は DM 群で有意に低下して PKC- $\beta$  阻害剤の投与によって改善が明らかになった ( $p < 0.05$ )。一方、VEGFR1 及び VEGFR2 の発現は 3 群間で有意な差を認めなかった。

#### (考察)

従って PKC- $\beta$  阻害剤は STZ によって誘導された I 型糖尿病マウスにおいて、障害された心筋梗塞周囲領域の血管新生を改善したが、その機序には VEGF と eNOS の関与があると結論された。今回の実験結果は PKC- $\beta$  阻害剤の糖尿病を合併した心筋梗塞に対する適応に繋がるものと考察し、今後は心臓超音波検査などの生理学的な機能評価や II 型糖尿病モデルなどでの検討が望まれると議論している。

## 審査の結果の要旨

今までに糖尿病における心筋梗塞での PKC に関する研究がなく、新奇性が評価される研究である。

手技的に困難な小動物での心筋梗塞モデルを一から確立した点と I 型糖尿病の作製という二重のハードルを超えての成果はチャレンジングなプロジェクトを考慮すると評価される。

心筋梗塞モデルの個体差など動物実験に特有のばらつきの問題、実験データの解釈をめぐって議論があったが、よく考察準備がされていた。

病態、治療効果のメカニズムは、VEGF のシグナル、インスリンシグナル両経路の連関の中、PKC の位置づけ、PKC $\beta$  阻害剤の作用機序は複雑である。その状況下、文献的考察も深くおこなっており自分の成果の位置づけも明確にこたえていた。博士課程に必要な実力見識を修得していると判断した。

一方、阻害剤の使用のタイムコースやインスリンの治療的使用、HGF、HIF-1 $\alpha$  など他の血管新生因子の検索、虚血・再灌流モデルの検討、インスリン抵抗性モデルでの検討などより深い洞察が可能な実験が示唆され、今後の課題として建設的意見が議論された。マウス心筋梗塞モデルの限界点も良く把握考察されていた。

平成 24 年 1 月 6 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

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。