

学 位 論 文 要 旨

氏 名 千阪 俊行

論 文 名 胎生期の低栄養による胎児発育遅延は、成長後に受ける
血管障害に対し、より強い細胞増殖反応を起こす

学位論文要旨

【背景・目的】胎児発育遅延は成人期における心血管病の罹患率を増加させるリスク因子となることが疫学研究や動物実験から報告されている。しかし、胎児発育遅延が血管自体に影響を及ぼしているかを動物モデルで検討した報告はほとんどない。本研究では、胎児発育遅延で生まれた仔において、将来に受ける血管障害に対する反応の差異があるかについて、マウス大腿動脈へのカフ留置術を用いて明らかにすることを目的とした。

【方法】野生型 (C57BL6) 母獣マウスに 10 週齢より 8%低蛋白食を与え蛋白質制限を行い、12 週齢より交配を行うことで胎児発育遅延マウスの仔 (low protein offspring : LPO) を作成し、20%通常蛋白食を与えたコントロール群の仔 (normal protein offspring : NPO) と比較検討を行った。出生後は両群ともに母獣マウスを通常蛋白食とし、離乳後の仔も通常蛋白食で飼育した。この 2 群の仔に対し、出生体重、10 週齢までの体重増加、12 週齢時のテレメトリー法による血圧測定を行い比較検討した。

次にこの 2 群の仔に対し、10 週齢時に大腿動脈にカフを留置し、2 週間後にエラスチカ・ワンギーソン染色にて新生内膜を同定し、その形成された面積を比較検討した。またカフ留置 1 週間後に血管を採取し、増殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen : PCNA) 染色を行い、細胞増殖の違いを比較検討した。

続いて、血管障害時の酸化ストレス反応について、大腿動脈にカフを留置 1 週間後に採取した血管を用いて、ジヒドロエチジウム染色によるスーパーオキシドアニオンの産生、リアルタイム RT-PCR による NADPH オキシダーゼのサブユニット (p22^{phox}, p40^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox}, gp91^{phox}, Rac1) の発現、そしてウェスタンブロット法を用いた p47^{phox}, p67^{phox}, Rac1 とスーパーオキシドデスムターゼ 1, 2 および 3 (SOD1, SOD2 および SOD3) の蛋白発現について解析した。また、血管障害時の炎症性サイトカインの発現について、同様にカフ留置 1 週間後の血管を用いて、リアルタイム RT-PCR により IL-1 β , IL-6, MCP-1, TNF α などの mRNA 発現を検討した。最後に血

管障害時の低酸素応答に関して、カフ留置 1 週間後の血管を用いて、低酸素誘導性因子-1 α (HIF-1 α) の免疫組織染色、mRNA 発現、蛋白発現を 2 群間で比較検討した。

【結果と考察】出生仔の体重は LPO 群で有意な減少を認めた (NPO; 1.3143 \pm 0.0098 g, LPO; 1.2072 \pm 0.0073 g) が、2 週齢時にキャッチアップし、その後 4、6、8 および 10 週齢での体重の差は認められなかった。また 12 週齢時のテレメトリー法を用いた血圧測定においても、2 群間で有意な差は認められなかった。

続いてこの 2 群を用いて成長後の血管障害時における反応の差異を検討した。大腿動脈カフ留置術 2 週間後の新生内膜形成について比較したところ、LPO 群において NPO 群に比較して有意に新生内膜形成面積が増大していた ($p < 0.01$)。また以下はカフ留置 1 週間で採取した血管における検討であるが、PCNA 染色による解析では、有意な差をもって LPO 群で血管障害後の細胞増殖反応が亢進していることが分かった ($p < 0.01$)。

この血管リモデリングの違いにおけるメカニズムを知るため、血管リモデリングにおける促進因子となる酸化ストレス反応について検討した。まず、スーパーオキシドアニオンの産生は、LPO 群で有意に産生が亢進していた ($p < 0.01$)。また産生経路のひとつである NADPH オキシダーゼのサブユニットの検討においても、LPO 群で有意に発現が亢進していた。一方、酸化ストレス反応の消去系として働く SOD に関しては、SOD3 において LPO 群において有意に発現が減少していた ($p < 0.01$)。次に、炎症性サイトカインの発現についても、IL-6 ($p <$)、IL-1 β ($p < 0.01$)、MCP-1 ($p < 0.05$)、TNF- α ($p < 0.01$) において、LPO 群で有意に発現が亢進していた。一方、新生内膜形成・細胞増殖反応・炎症性サイトカインの発現において、カフを留置していない血管においては 2 群間に有意な差は認められなかった。

最後に動脈硬化の促進因子となることが報告されている血管障害時の組織低酸素応答について HIF-1 α の発現を解析したところ、カフ留置 1 週間後の血管において、免疫組織染色にて有意に HIF-1 α 陽性率が高まり ($p < 0.05$)、HIF-1 α の mRNA 発現 ($p < 0.01$)、蛋白発現 ($p < 0.05$) が LPO 群で有意に亢進していた。

以上の結果より、胎生期の低栄養による胎児発育遅延を起こした仔は、成長後に血管障害を受けた場合、通常食飼育母獣より生まれた対照仔に比べて、血管における酸化ストレス反応の亢進、炎症反応の亢進、組織低酸素反応が強く誘導される可能性が示唆された。このことは、胎児期に受けた影響が、将来の血管障害に影響を与えることが危惧され、胎児期の発育遅延は、将来の血管性病変に対する危険因子となると考えられ、出生時低体重であった子供に対しては、心血管病予防に配慮した対応をしていく必要であると考えられた。

【結語】胎生期の低栄養は将来に渡り、血管障害に対する感受性を亢進させる因子となる可能性が示唆された。

| | |
|-------------|---|
| キーワード (3~5) | 胎児発育遅延 血管リモデリング 細胞増殖 酸化ストレス 低酸素 |
|-------------|---|

