

学位論文審査結果の要旨

氏名	千 阪 俊 行
審査委員	主査 田中 潤也 副査 泉谷 裕則 副査 藤岡 徹 副査 伊賀瀬 道也 副査 青戸 守

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

審査結果の要旨

【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であることが知られている。しかし、胎児発育遅延が血管自体に影響を及ぼすか否かは十分明らかになっていない。本研究では、胎児発育遅延で生まれたマウスに、大腿動脈へのカフ留置による血管障害モデルを作成し、将来に受ける血管障害に対する反応の差異について検討した。

【方法】母獣マウス（C57BL6）に8%低タンパク食を与えて作成した胎児発育遅延マウスの仔(1ow protein offspring :LPO)と20%通常タンパク食を与えたマウスの仔(normal protein offspring :NPO)について、10週齢までの体重増加を調べ、12週齢時にテレメトリー法による血圧測定を行った。

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、その面積を測定した。カフ留置1週間後に血管を採取しPCNA染色により細胞増殖能を調べた。また、血管障害時の酸化ストレス反応を調べるため、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オキシダーゼの各サブユニット(p22^{phox}など)mRNA発現、ウエスタンブロットによる同サブユニットおよびスーパーオキシドデスムターゼSOD1, 2, 3の発現を検討した。同様に、カフ留置後1週間の血管サンプルを用いて、IL-1 β 、IL-6、MCP-1等の起炎症性メディエータ

一 mRNA 発現を調べた。更に、血管障害時の低酸素応答に関して同じサンプルを用いて、低酸素性誘導因子-1 α (HIF-1 α) の免疫組織染色、mRNA およびタンパク質発現の比較検討を行った。

【結果】 出生仔の体重は LP0 群で有意に減少していたが、2 週齢時に NP0 群と同等になり、その後 10 週齢まで体重差は認められなかった。12 週齢時のテレメトリー法による血圧測定でも、2 群間に有意な差は認めなかった。

この 2 群間での血管障害時の反応の差異を検討した。大腿動脈へのカフ留置後 2 週間で、LP0 群は NP0 群に比して新生内膜が増大し、PCNA 陽性率が高い、すなわち血管障害後の細胞増殖がより顕著となっていた。この血管リモデリングの違いに関与するメカニズムを探るため、酸化ストレス反応について検討したところ、LP0 群でスーパーオキシドアニオンの産生増加および産生経路の一つである NADPH オキシダーゼ各サブユニットの発現が増加していた。一方、SO D3 の発現の減少が LP0 群で見られた。起炎症性メディエーターの発現も、LP0 群で有意に増加していた。これらの有意な結果は、大腿動脈へのカフ留置後に観察されたものであり、カフを留置していない血管では 2 群間に有意差は見られなかった。

血管障害時の組織低酸素応答の指標となる HIF-1 α の発現は、カフ留置 1 週間後において、免疫組織染色、定量的 RT-PCR、ウエスタンブロットにより、LP0 群で有意に増加していることが判明した。

【考察と結論】 以上の結果は、低栄養による胎生期の胎児発育遅延を起こした仔は、成長後に血管障害を受けると、対照仔に比べ血管における酸化ストレス反応、炎症反応、組織低酸素反応の亢進が生じることを示している。このことは、胎児期の発育遅延は将来の血管性病変の危険因子となる可能性を示唆しており、低出生体重児に対しては心血管病予防に配慮した対応が必要であると考えられた。

本研究に関する公開審査会は平成 27 年 9 月 15 日に開催された。申請者は、英語での発表も含め、よく練られた明快なスライドと分かりやすい口頭説明を行った。その後、1) 低出生体重時の増加傾向と背景、2) 8%のタンパク質含量を選択した理由、3) 妊娠中のどの期間が低栄養状態に対し感受性が高いのか、4) カフ留置モデルの血管障害発症のメカニズム、5) 今回の動物モデルの長期予後について、6) epigenetic な変化について、7) レニン-アンギオテンシン系との関連、8) 胎児発育遅延による悪影響は可逆的なものか、9) ウエスタンブロットにおける内部標準について、10) HIF-1 α 発現細胞の同定、など多岐にわたる質疑がなされた。これらに対し、申請者は分子レベルから臨床的意義に至るまで明快で的確な回答を行った。以上により、審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が博士の学位授与に値すると判定した。