

審査の結果の要旨

氏名 藤原 隆行

本研究は、多光子励起レーザー顕微鏡および臓器透明化技術を用いて、心血管臓器三次元イメージングの確立を試み、またその手法を用いて心血管疾患における血管リモデリングの解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 臓器透明化技術 CUBIC を用いて、マウス心臓および肺の透明化に成功した。臓器ホルマウント平滑筋染色および血管内皮細胞染色を試み、CUBIC を独自に改変した変法により、臓器全層での平滑筋および血管内皮細胞三次元画像構築を行うことに成功した。
2. 上記で確立した方法を用いて、Transverse aortic constriction (TAC)を用いた圧負荷心筋症モデルおよびドキシソルビシン心筋症モデルの2つの非虚血性心筋症モデルにおける心筋内微小血管リモデリングの評価を行った。圧負荷心筋症モデルでは心筋内微小血管の架橋構造、網目状構造の増加を認め、血管体積が増加していた。またドキシソルビシン心筋症モデルでは血管体積が増加傾向であった。
3. 血管構造の評価に汎用されている血管体積に加えて、血管形態の複雑性を評価するフラクタル次元を用いた評価を行った。圧負荷心筋症モデルは対照群と比較してフラクタル次元が上昇していた。またドキシソルビシン心筋症モデルでもフラクタル次元は上昇していた。
4. 各種肺高血圧症マウスモデルにおける血管平滑筋リモデリングを評価した。従来より頻用されている低酸素負荷モデル、低酸素負荷+VEGF 受容体拮抗薬投与モデルに加えて、遺伝性肺高血圧症モデルである *Alk1*ヘテロノックアウトマウスおよび、新規の肺高血圧モデルの提唱として低酸素負荷+肺葉切除モデルについて検討した。いずれのモデルでも血管平滑筋の内腔方向への肥厚を認めたが、低酸素負荷+VEGF 受容体拮抗薬投与モデルを除く肺高血圧症モデルでは、肺末梢方向への伸長を認めるのに対して低酸素負荷+VEGF 受容体拮抗薬投与モデルでは肺末梢方向への伸長は認めず、肺高血圧症モデル間で血管平滑筋リモデリングが異なることを示した。
5. 低酸素負荷モデルに Endothelin 受容体拮抗薬を投与したところ、血管平滑筋の内腔方向への肥厚は改善傾向であったが、肺末梢方向への伸長は低酸素負荷モデルと同様であった。したがって、肺高血圧症モデルにおいて、VEGF は伸長方向（長軸）への血管平滑筋増殖、Endothelin は内腔（短軸）への血管平滑筋増殖を担っている可能性が示唆された。

以上、本論文では心血管臓器三次元イメージングを確立し、その手法を用いて心臓・肺

における各種疾患モデルでの血管リモデリングを示した。本研究は、新規の手法である臓器三次元イメージングを用いて、過去の手法では捉えることができなかった組織リモデリングを明らかにし、新たな病態解明および薬効評価に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。