

審査の結果の要旨

氏名 秋好 沢論

本研究は、本邦において全死亡数のおよそ 1/5 を占める脳心血管系疾患に大きく関与している血管石灰化という病態の解明において、細胞実験および動物実験という既存の実験系を補強する新たな実験系の構築により、マウス摘出大動脈の石灰化誘導による病理像の観察および分子生物学的変化を検討したものである。その結果を下記に記す。

1. 摘出したマウス胸部大動脈を高リン濃度培養液にて培養するという高リン刺激によって、時間依存的かつリン濃度依存的に von Kossa 染色にて同定される石灰化面積の亢進およびカルシウム沈着量の増加が示された。
2. 摘出したマウス胸部大動脈は高リン濃度培養下でも少なくとも 10 日間は血管としての組織構造および細胞単位では核の残存を認め、ナトリウム依存性リン酸トランスポーターに対する阻害剤添加によって高リン刺激による石灰化が抑制されることから、摘出した胸部大動脈は高リン刺激によって能動的に石灰化していることが示された。
3. 若齢マウス（12～18 週齢）、高齢マウス（40～52 週齢）それぞれから摘出した胸部大動脈を高リン刺激によって石灰化誘導した結果、高リン刺激早期に若齢マウスと比較して高齢マウスでは石灰化が亢進することが認められ、血管平滑筋細胞の骨芽細胞様形質転換に大きく関わる転写因子である Runx2 の発現も、高リン刺激後早期に上昇することが認められたことにより、本実験系が石灰化という病理学的変化だけではなく、その過程における生物分子学的変化も検討できる可能性が示された。
4. ストレプトゾシン投与によって糖尿病を発症させた若齢マウスと高齢マウスを本実験系に適用した結果、若齢、高齢ともに糖尿病群における石灰化の亢進および Runx2 の発現上昇が認められ、本実験系が病態モデルマウスにも適用できる可能性が示された。
5. 摘出したマウス大動脈に高リン刺激を与えた結果、血管石灰化に対する保護作用があるとされる Sirt1 の発現は低下し、高齢マウスではその発現低下がより顕著であることが認められた。高リン刺激による石灰化誘導に際し、

Sirt1 の活性阻害剤である Sirtinol を添加することにより石灰化は亢進し、Sirt1 ヘテロノックアウトマウスにおいても石灰化が亢進したことから、本実験系が遺伝子改変マウスにも適用でき、生物分子学的検討に有用である可能性が示された。

以上、従来 of 細胞実験による分子生物学的検討と動物実験による病理学的観察に基づく血管石灰化の研究に対して、本研究では摘出したマウス大動脈を高リン刺激によって培養液中で石灰化誘導することにより、分子生物学的変化と病理像とを検討できる新しい実験系を提唱した。この実験系はマウスの週齢や病態、遺伝的背景をも反映することが示され、今回行なった加齢や糖尿病、Sirt1 遺伝子に関する検討に加えて、性差や他の病態、遺伝子など今後更なる血管石灰化の病態解明に寄与することが期待でき、学位の授与に値するものと考えられる。