

氏 名	唐 向明
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医工農博4甲 第83号
学 位 授 与 年 月 日	令和5年9月26日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当
専 攻 名	医学専攻
学 位 論 文 題 名	Pathological Investigations of Intracranial Atherosclerosis Using Multiple Hypercholesterolemic Rabbit Models (高脂血症ウサギモデルを用いた頭蓋粥状硬化の病理学的研究)
論 文 審 査 委 員	委員長 教授 近藤 哲夫 委員 教授 佐藤 明 委員 講師 榊原 賢士

学位論文内容の要旨

Background

Intracranial atherosclerosis (ICAS) is one of the most common causes of ischemic stroke, but there are few animal models that can recapitulate its pathological features. In this study, we examined ICAS pathological features and anatomic distributions using three types of hyperlipidemic rabbit models. We also investigated the effect of different lipoprotein profiles and hypertension on ICAS.

Materials and Methods

We examined Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbits, apoE knockout (KO) rabbits and wild-type rabbits (WT) fed a cholesterol diet, in addition to WT rabbits fed a standard diet as a control. The whole brain was dissected and embedded in paraffin. Serial sections were stained with either hematoxylin/eosin or elastica van Gieson, or immunohistochemically stained with monoclonal antibodies against macrophages and smooth muscle cells. We investigated (1) the presence of cerebral atherosclerosis; (2) the lesion locations in the cerebral arteries; (3) the degree of lumen stenosis; (4) pathological features and cellular components of the lesions in these rabbits; and (5) whether hypertension affects ICAS.

Results

ICAS was detected in apoE and WHHL rabbits, but not in WT rabbits. Compared with apoE KO rabbits, WHHL rabbits had greater ICAS. The lesions of cerebral atherosclerosis were mainly distributed at the bifurcations of the posterior cerebral artery, basilar artery and vertebral artery, and they were basically characterized by smooth muscle cells and extracellular matrix with few macrophages. The extent of the ICAS in WHHL rabbits was significantly increased by hypertension.

Discussion

In the current study, we performed a systemic examination of cerebral atherosclerosis using three hypercholesterolemic rabbits with different lipoprotein profiles. Similar to the previous study, cholesterol-diet feeding alone failed to induce cerebral atherosclerosis in WT rabbits, suggesting that cerebral arteries are generally resistant to hypercholesterolemia compared with aortas and coronary arteries. Next, we examined apoE KO rabbits, which have higher TC and TG levels than WT rabbits, and more atherosclerosis in the aorta and coronary arteries. However, only a few apoE KO rabbits exhibited tiny lesions in the cerebral arteries. This result suggests that high levels of cholesteryl ester-rich remnant lipoproteins were not highly atherogenic to cerebral arteries compared with extracranial arteries regardless of the absence of apoE in these particles, although apoE deficiency significantly increases the development of both aortic and coronary atherosclerosis in these rabbits.

Differing from cholesterol-fed WT and apoE KO rabbits, WHHL rabbits had high levels of plasma LDLs, similar to human familial hypercholesterolemia. In the current study, WHHL rabbits aged 12 to 31 months exhibited a higher incidence of cerebral atherosclerosis (87%) and severe stenosis than apoE KO rabbits, suggesting that LDLs are more atherogenic than β -VLDLs in terms of cerebral atherosclerosis.

Hypertension is one of the essential factors in the development and progression of intracranial atherosclerosis. As the risk of cerebral atherosclerosis is significantly increased by hypertension in the setting of hypercholesterolemia, we examined the effects of renovascular hypertension on the development of cerebral atherosclerosis in WHHL rabbits

A marked increase in the incidence and degree of stenosis due to significantly increased macrophages in the lesions, were observed in hypertensive WHHL rabbits, strengthening the notion that hypertension accelerates the development of cerebral atherosclerosis. Hypertension not only increases the incidence, but also the lesion size with more macrophages in the cerebral arteries. This also suggests that this hypertensive WHHL rabbit model is a useful tool to examine cerebral atherosclerosis.

Conclusions

ICAS was detected in WHHL and apoE KO rabbits, and occurred in specific locations in the cerebral arteries. Hypertension promotes the development of ICAS in the setting of hypercholesterolemia.

論文審査結果の要旨

1. 学位論文研究テーマの学術的意義

動脈硬化症は心臓疾患、中枢神経疾患、大動脈疾患、末梢動脈疾患の発生に関わっている。

この中で頭蓋内動脈硬化症 intracranial atherosclerosis (ICAS)は虚血性脳卒中の主たる原因となっているが、心血管や大動脈の動脈硬化とは異なり ICAS 発生の分子病理学的メカニズムは十分な解明がされていない。これはヒト脳血管を材料とした研究が難しいこと、適切な疾患動物モデルがないことが要因となっている。ICAS の動物モデルとしてラットやマウスなどのげっ歯類を用いて検討がなされてきたが、これらの動物モデルでは脳血管には病理形態学的な異常が生じないか、脂質の沈着のみ程度しか認められていなかった。本研究では3種類の高脂血症ウサギを用いて、ICAS の病理学的解析を試みている。複数の高脂血症プロファイルと高血圧の組み合わせで ICAS の頻度、分布、血管の病理学的変化を解析しているが、げっ歯類動物モデルとは異なり、ウサギモデルではヒト ICAS に組織学的に類似した動脈硬化症を再現することに成功した。ICAS の病因、病態の解明に繋がるとともに脳卒中予防の基盤研究になることが期待され、本研究の学術的意義は高いと考える。

2. 学位論文及び研究の争点、問題点、疑問点、新しい視点

本研究では Watanabe 遺伝性高脂血症ラビット Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) ウサギ、apoE ノックアウト(KO) ウサギ、高コレステロール食摂取野生型ウサギ (KO) の3種類の高脂血症モデルウサギを用いている。ICAS はWHHL ウサギ、KO ウサギに観察され、WTに ICAS は生じなかった。また KO ウサギよりも WHHL ウサギのほうが ICAS の程度は高度であった。WHHL ウサギの片腎摘除による高血圧負荷により ICAS はより高度となった。これらの結果は高脂血症に加えて高血圧が ICAS を増悪させる重要な因子となっていることを示しており、ヒト ICAS の病態理解に新しい視点を加えた。

本研究で使用した3種類の高脂血症ウサギは異なる血清脂質プロファイルを示した。KO ウサギはヒト異常 β リポ蛋白血症と類似の血清脂質プロファイルを示し、WHHL ウサギはヒト家族性高コレステロール血症の血清脂質プロファイルを示している。ヒト高脂血症に類似したウサギ高脂血症であり、高脂血症のパターンによって ICAS の発生に変化があることは興味深い。ヒトにおいても高脂血症の種類によって ICAS の発生が異なるのか、今後の検討が期待される。

本研究は高脂血症ウサギモデルが ICAS を再現できることを証明したが、ICAS が生じるまでの病理組織レベル、分子レベルでのプロセスの解明には至っておらず、今後の課題として残されている。

3. 実験及びデータの信頼性

学位申請論文に材料と方法は適切に記載されており、図表に示されている結果は明快で、その結果の解釈、考察は妥当である。審査時の質疑応答、自己担当報告書から主たる実験の知識と技術を申請者が習得し、自ら研究を行っていることを確認した。論文の共同著者全員から学位論文が共著論文である場合の承諾書が提出されており、論文には共同著者の研究への役割分担が明記されている。論文作成においては指導者、共同研究者らに適切な助言、協力を受けていると判断される。本研究のデータに客観的な信頼性があると評価する。

4. 学位論文の改善点等

提出された学位申請論文は査読付き雑誌 Frontier in Endocrinology (Journal impact factor2021 6.055) に採択、出版されている。申請論文の書式、内容、図表、英文は博士論文として高い水準にあり、修正、加筆の必要なしと判断した。