

## 論文内容の要旨

岡本 亜希子

### 論文題目

The involvement of the vasa vasorum in the development of vasculitis in animal model of Kawasaki disease.

### 論文内容の要旨

川崎病は主に乳幼児に全身性の血管炎を引き起こす原因不明の疾患である。臨床的、組織学的、そして分子生物学的にあらゆる研究がなされてきたが、冠動脈病変が進行するメカニズムに関しては未だ十分にわかっていない。本研究の目的は、血管形成・脈管形成および血管の分布の過程について川崎病血管炎動物モデルを使用して解析することである。

我々は、生後 5 週の C57B/6N マウスを 6 つのグループに分けた。モデル群のマウスには腹部に連続 5 日間、Candida albicans water-soluble fraction (以下、CAWS) を 0.2ml ずつ投与し、投与後 1 週後・2 週後・3 週後のグループに分けた。また、それぞれに対応してコントロール群も準備した。そして組織学的・走査型電子顕微鏡 (以下、SEM) および micro CT による観察を行い、血管病変における外膜からの vasa vasorum の変化を観察した。

まず全てのグループに対して腹部大動脈から生理食塩水で血液を全て洗い流し、心臓を摘出して大動脈弁レベルでの組織を観察した。最初に hematoxylin and eosin (HE) 染色および Elastic van Gieson (EVG) 染色を行い光学顕微鏡で観察した。さらに免疫組織化学的解析も行い炎症細胞の種類を同定した。最後に免疫蛍光染色を行い炎症細胞の出現とその浸潤を観察した。次に炎症血管の外膜側に存在した微小血管の種類を同定するため、微小血管の外膜を SEM によって観察した。最後に micro CT によって大動脈および冠動脈を撮影し、三次元に再構築した。

まず、組織学的解析の結果、CAWS 投与 1 週後にすでに外膜側に炎症細胞の浸潤が見られた。2 週後には炎症細胞の明らかな浸潤と弾性板の破壊が見られた。3 週、4 週後になると明らかな外膜の肥厚が認められた。免疫組織学的解析では CAWS 投与 1 週後に炎症細胞が見られた部分に CD3 陽性細胞が認められ、2 週後には CD3 陽性細胞はさらに増殖し MPO 陽性細胞も認めるようになった。3 週後以降は、MPO 陽性細胞がさらに増殖した。以上の結果より、炎症細胞は単球・リンパ球・好中球であると同定した。最後に免疫蛍光染色を施行したところ、動物モデルにおいて微小血管を認めた。この微小血管は経過とともに内膜方向へ浸潤し、CAWS 投与 3 週後以降は血管全周に

浸潤した。vasa vasorum は血管の外膜および中膜の外側 1/3 の栄養血管であるため、この血管外膜の微小血管は vasa vasorum あるいはその分岐と考えられた。この vasa vasorum は炎症が進行するにしたがって増殖した。

次に SEM による解析では大動脈および冠動脈周囲に網目状に微小血管が存在した。これらは分岐より vasa vasorum であると考えられた。動物モデルにおいては vasa vasorum が増殖しており、炎症の進展に伴いさらに進行した。

最後に micro CT でも観察したところ、冠動脈の分岐部を観察すると、コントロール群および CAWS 投与 1 週後では大動脈からの分岐部がはっきりと観察できるが、1 週後以降は造影剤が漏出し分岐部の観察は不可能であった。これは炎症によって血管壁が脆弱になっていることを示すものである。

川崎病による炎症は初期には炎症は微小血管にとどまっているが、徐々に拡大し中型血管にまで浸潤する。今回、CAWS を投与した 1 週後に炎症細胞は血管の外膜より内側に浸潤し、2 週目には明らかな炎症性変化が中膜・内膜に認められた。3 週目以降は炎症は全周性に広がり血管の基本構造が破壊されて脆弱化した。炎症超初期に血管外膜に炎症細胞は認められたが、内膜が傷害された場合に認められる内皮細胞の脱離や血栓は認められなかった。つまり血管炎は外膜より生じているということとなる。炎症が増強すると growth factor が増加し、組織浮腫、低酸素状態が引き起こされ、growth factor、サイトカイン、血液細胞の導管となる vasa vasorum が増殖することで炎症は広がる。炎症細胞が vasa vasorum を通って浸潤するとさらに内側に vasa vasorum が新生するので炎症病変も内側に向かって浸潤していく。

冠動脈瘤の病態生理については、我々は内皮細胞傷害と vasa vasorum の炎症の両方が関与しているのではないかと考えた。微小血管の浮腫が長引けば、vasa vasorum を介した冠動脈壁への酸素供給が損なわれ、冠動脈の中膜は虚血状態になる。これによって冠動脈の構造が非常に脆弱になるのである。

以上より、vasa vasorum は炎症細胞の浸潤に大きく関与していると言える。