

病態モデル動物を用いた脳細動脈硬化における 血管線維化機構の解明とヒト脳血管病変における意義

自治医科大学医学部 解剖学講座 法学部門

助教 稲垣 健志

(共同研究者)

自治医科大学医学部 薬理学講座 分子薬理学部門

講師 東 森生

自治医科大学医学部 解剖学講座 組織学部門

講師 山崎 礼二

自治医科大学医学部 解剖学講座 法医学部門

技師 大岡 汐里

はじめに

高齢化社会が進行する我が国では、脳卒中罹患者の増加が続く。脳卒中は再発率が非常に高く、発症後1年で約10%、10年では約50%にのぼる。その上、再発を繰り返すことで後遺障害が重篤になり、寝たきりの原因の約1/3を占めて第1位である。さらに脳卒中は脳血管性認知症も引き起こす。この脳卒中の最大の危険因子は高血圧と加齢であり、その病態には脳細動脈硬化などの血管の構造変化、すなわち血管リモデリングが深く関与している。実際に高血圧持続下で脳細動脈硬化が進展する過程では、血管中膜の平滑筋細胞の変性や血管線維化が進行する⁽¹⁾。

脳細動脈の血管周囲腔には脳血管周囲マクロファージ(PVMs; perivascular macrophages)が存在する(図1(a))。我々は最近、脳細動脈硬化を来す高血圧モデルラットを用いた研究

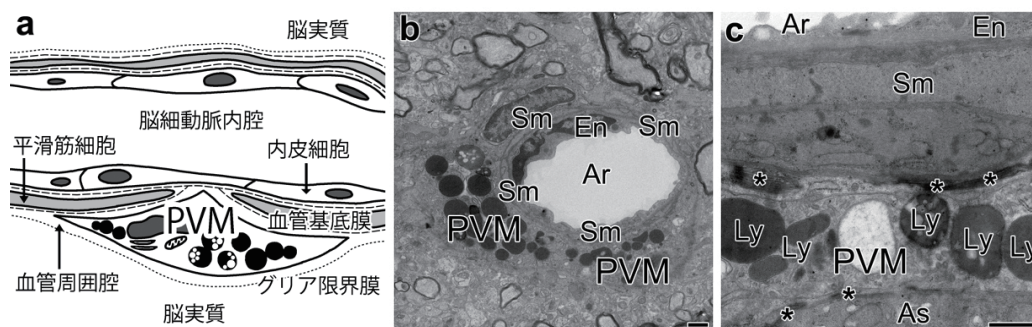


図1 脳細動脈には脳血管周囲マクロファージ(PVMs; perivascular macrophages)が存在し、PVMの周囲にコラーゲン線維が観察される。

模式図(a): 脳細動脈の血管基底膜と脳実質のグリア限界膜に囲まれた血管周囲腔にPVMが存在する。透過型電子顕微鏡の低倍率像(b)と高倍率像(c): 12週齢の雄の高血圧ラット(SHRSP/Izm)において、脳細動脈の血管腔(Ar; arteriole lumen)は内皮細胞(En; endothelial cells)、平滑筋細胞(Sm; smooth muscle cells)、多数のライソゾーム(Ly; lysosomes)を有する血管周囲マクロファージ(PVM)に囲まれ、PVMの周囲には多数のコラーゲン線維(asterisks; c)を認める。脳細動脈はアストロサイトのエンドフィート(As; astrocytic endfeet)で取り囲まれている。Bars 1 μ m

から、脳細動脈硬化の進行過程で脳細動脈周囲に線維性の I 型コラーゲンの増生が起こること、この I 型コラーゲン線維はPVM周囲に多数認められ (図 1 (b,c))、さらに脳細血管周囲の I 型コラーゲン産生細胞の多くがPVMであることを世界で初めて見出した⁽²⁾。しかし、線維化を制御する I 型コラーゲン代謝機構の全容や、PVMが I 型コラーゲン産生を介して血管線維化や個体の予後に及ぼす影響は依然として不明である。

そこで、脳卒中における脳細動脈周囲のコラーゲン代謝機構や病態、個体の予後に果たすPVMの役割の解明を目的に、脳細動脈硬化を来す老化の病態モデル動物を用いて血管線維化とPVMに関する超微細形態学的研究を行った。

結 果

老化による変化を確認するために、正常血圧ラット (WKY/Izm) の 1、3、6、12、18、24月齢の雄の個体を用いて、透過型電子顕微鏡での観察を行った。1月齢と比較して18、24月齢で有意な脳細動脈周囲のコラーゲン線維の増加が認められ (図 2)、老化に伴い脳細動脈周囲だけでなく脳実質にもコラーゲン線維が観察された (図 3)。また、1月齢と比較して18、24月齢でPVMのライソゾームが空胞化して肥大し、有意に大型化することが明らかになった (図 4)。PVMは加齢の条件下で脳細動脈周囲におけるコラーゲン線維の増生と関連し、老化によって引き起こされる脳細動脈硬化性変化に関与している可能性が示唆された。

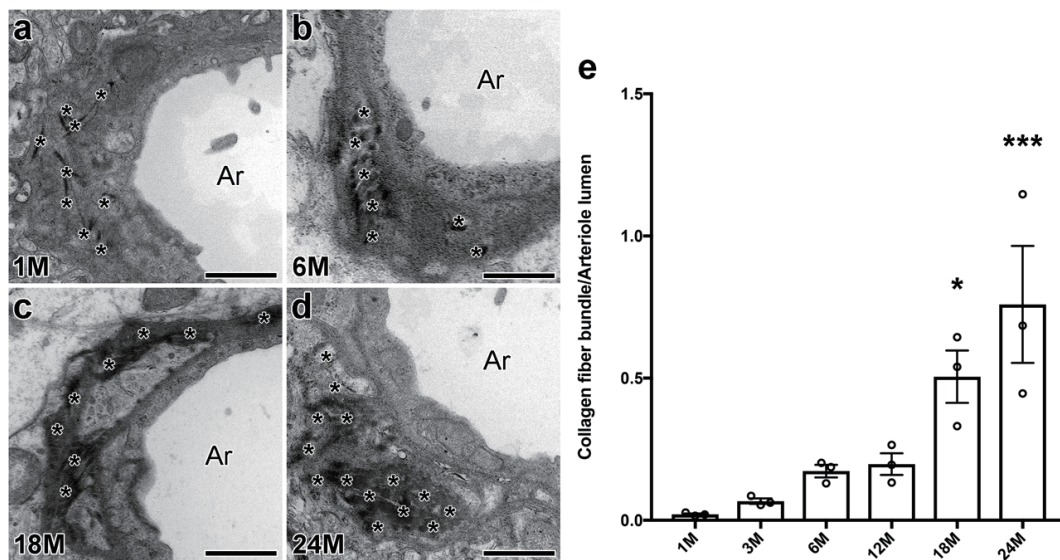


図 2 雄の正常血圧ラットの脳細動脈周囲では加齢に伴いコラーゲン線維が増加している。

1月齢 (a)、6月齢 (b)、18月齢 (c)、24月齢 (d) の雄の正常血圧ラット (WKY/Izm) で、脳細動脈周囲にコラーゲン線維 (asterisks; a-d) を認めた。Bars 1 μ m

18月齢および24月齢の雄の正常血圧ラットでは、コラーゲン線維と脳細動脈の血管腔 (Ar; arteriole lumen) の面積比が、1月齢の雄の正常血圧ラット比べて有意に高かった (e)。グラフのバーは平均値、ラインは標準誤差を示す。* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ vs. 1月齢、1元配置分散分析 (one-way ANOVA, Dunnett検定)

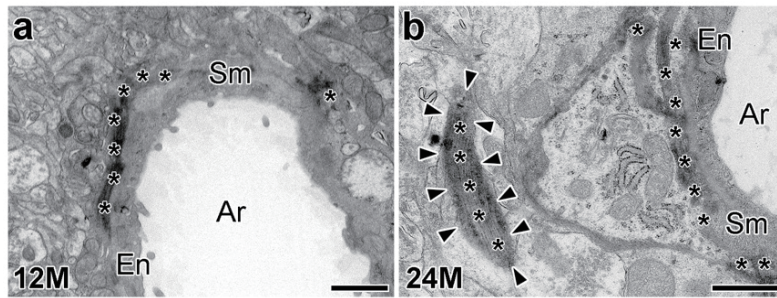


図3 老齢の雄の正常血圧ラットでは脳細動脈周囲だけではなく脳実質にもコラーゲン線維が観察される。

12月齢 (a) および24月齢 (b) の雄の正常血圧ラット (WKY/Izm) で、脳細動脈 (血管腔, arteriole lumen; *Ar*) に近接してコラーゲン線維 (*asterisks*; a,b) を認めた。24月齢では脳実質にもコラーゲン線維 (*arrowheads*で囲んだ*asterisks*; b) が見られたが、12月齢では観察されなかった。Bars 1 μ m

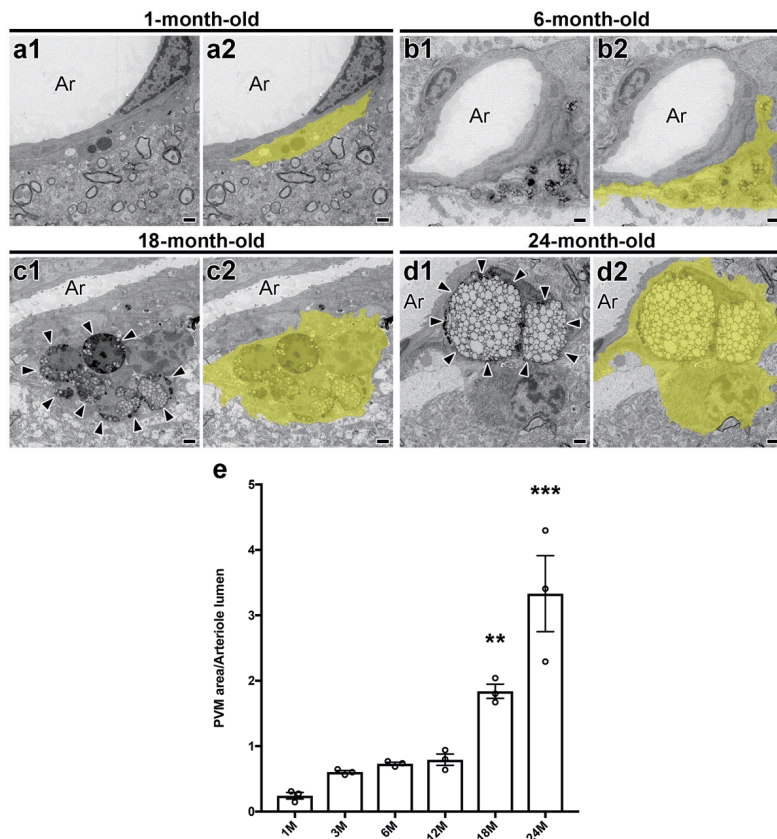


図4 雄の正常血圧ラットでは、成熟にともない脳血管周囲マクロファージ (PVMs; perivascular macrophages) のライソゾームが空胞化して肥大し、PVMは大型化した。

1月齢 (a)、6月齢 (b)、18月齢 (c)、24月齢 (d) の雄の正常血圧ラット (WKY/Izm) の脳細動脈近傍に存在するPVMを観察した。元画像 (a1-d1)、PVMを黄色で着色 (a2-d2)、顕著な空胞化を示すPVMのライソゾーム (*arrowheads*; c1,d1)。Bars 1 μ m

18月齢および24月齢の雄の正常血圧ラットでは、PVMと脳細動脈の血管腔 (*Ar*; arteriole lumen) の面積比が、1月齢の雄の正常血圧ラットと比べて有意に高かった (e)。グラフのバーは平均値、ラインは標準誤差を示す。** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. 1月齢、1元配置分散分析 (one-way ANOVA, Dunnett検定)

考 察

我々は以前に、高血圧ラットの成熟により脳細動脈周囲の I 型コラーゲンの増生がみられ、PVMが I 型コラーゲンの産生に関わる Colla1 mRNAを有することを示した⁽²⁾。今回、正常血圧ラットの老化の過程で、脳細動脈の血管線維化とPVMの形態について超微細形態観察を行ったところ、加齢でも脳細動脈周囲のコラーゲン増生が見られ、同時にPVMが大型化することも明らかになった。高血圧や加齢をはじめ脳細動脈硬化を来す様々な病態では共通して、PVMによる I 型コラーゲン産生が亢進し血管線維化が進行すると考えられる。最近の研究報告では高血圧ラットの成長に伴い脳細血管周囲にPVMが増加するとされており⁽³⁾、我々の研究結果と併せて高血圧や加齢などによりPVMが数的な増加を来し、血管線維化を促進すると推測する。また、脳細動脈周囲の星状膠細胞、周皮細胞、平滑筋細胞などが脳細動脈や毛細血管の障害の生理学的・病理学的機序に深く関わるということが注目されている⁽⁴⁾。例えば、脳虚血に伴う血液脳関門の破綻において I 型コラーゲンを分解する MMP (matrix metalloproteinase) -9およびMMPの分解阻害因子TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinase) -1の発現・活性の増加が報告された⁽⁵⁾。マクロファージは種々の病態でMMPやTIMPを産生し得るため、脳卒中の病態でもPVMがMMP-9やTIMP-1を産生して I 型コラーゲン代謝を調節し、脳細動脈の血管リモデリングに関与する可能性がある。

今後は、高血圧や加齢に加えて肥満を呈する病態モデル動物やヒトの脳組織を用いて、PVMに制御される I 型コラーゲン産生・分解の不均衡が生じる機序に着目して研究を進め、脳卒中の病態におけるMMPやTIMPの役割を明確にすることで、新規の治療法の開発基盤につなげたい。

要 約

正常血圧ラットの加齢により、脳細動脈周囲のコラーゲン増生が見られ、同時にPVMが大型化することが分かった。PVMは高血圧や加齢の条件下で脳細動脈周囲におけるコラーゲン線維の増生と関連し、高血圧の持続や老化によって引き起こされる脳細動脈硬化性変化に関与している可能性が示唆された。

文 献

1. 間藤方雄、大河原重雄、益子敏弘、ら。SHR-SPラットにみられる脳細動脈の構築変化とMATO(FGP)細胞の経時的変化に関する研究。*動脈硬化* **28**:137-141 (2001)
2. Inagaki T, Azuma M, Yamazaki R, et al. Perivascular macrophages produce type I collagen around cerebral small vessels under prolonged hypertension in rats. *Histochemistry and Cell Biology* **155**:503-512 (2021)
3. Iyonaga T, Shinohara K, Matsuura T, et al. Brain perivascular macrophages contribute to the

development of hypertension in stroke-prone spontaneously hypertensive rats via sympathetic activation. *Hypertension Research* **43**:99-110 (2020)

4. Blevins BL, Vinters HV, Love S, et al. Brain arteriolosclerosis. *Acta Neuropathologica* **141**:1-24(2021)
5. Fujimoto M, Takagi Y, Aoki T, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases protect blood-brain barrier disruption in focal cerebral ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* **28**:1674-1685 (2008)