

1. 心臓・大血管系突然死の分子病態とその法医学的応用

石田 裕子

和歌山県立医科大学 医学部 法医学教室

Key words : 心臓, 大血管, 突然死

緒 言

突然死とは「不意の死」「にわかの死」を意味し、「死に至るまでの時間経過が短い」ことを表す用語である。突然死には交通事故や災害死といった外因死は含まれず、WHOは「発症後24時間以内の予期せぬ自然死(内因死)」を突然死と定義している。我が国における突然死の発生頻度は、全自然死の14~17%と決して少ないものではない。突然死の死因を医学的に正確に究明し、死亡者の周囲で発生してくる種々の社会的問題を解決することは法医学の使命である。さらに死因を究明することだけに留まらず、突然死例およびそれに関連する実務的および基礎的研究を通じて突然死の予知・予防ならびに治療法開発のための情報を提供することもこれからの法医学が担う新たな使命である。しかしながら、現在法医学を発信源として他分野へ貢献できるような研究成果は、国内・国外を問わずほとんど認められない。

法医実務において死因確定は最も重要な実務の一つであり、その際客観性かつ正確性が求められる。しかしながら、死因判定は解剖における肉眼所見、病理組織所見を中心とした限られた検査所見に基づいて行われているのが現状である。一方、同じ応用医学に分類される種々の臨床医学分野においては、診断精度向上のために遺伝診断や新規の診断マーカーの発見など最新の知見・技術が導入されている。法医学は臨床医学と同様に実務的な応用医学であり、常に最先端の基礎研究の知見が応用されなければならない。

突然死の死因の約半数は、心臓・大血管系疾患であり、特に急性心筋梗塞や大動脈瘤破裂、大動脈解離はその代表である。急性心筋梗塞での心筋障害と心筋リモデリングや、大動脈瘤・大動脈解離形成における炎症細胞と動脈壁細胞外マトリックスの動態は、著者らが行ってきた皮膚創傷治療や肺線維症発症のメカニズムにおける炎症反応と組織修復という観点から共通点が多い。実際、心筋梗塞および大動脈瘤においては種々のケモカイン発現が報告されており、病態形成への関与は明らかである。しかしながら、その詳細は国内外を通じて未だ断片的な研究しかされていない。本研究では、急性心筋梗塞および大動脈瘤、大動脈解離の分子機構について、サイトカイン・ケモカインに着目した実験的研究および実務的研究を展開してそれら分子の発現動態が法医実務において突然死診断のための有用な分子指標となり得るか否かを検討することにより、突然死の新たな分子法医診断法を確立することを最終目的とする。

方 法

大動脈瘤モデル：8週齢オスの野生型マウスを深麻酔下にて開腹し、左腎静脈直下の高さから腸骨動脈分岐部の高さまでの大動脈を周囲組織から剥離して0.5 M塩化カルシウム溶液に浸した脱脂綿を大動脈周囲に15分間置いた後、脱脂綿を取り除いて閉腹した。6週間後に大動脈を採取してRNAを抽出し、種々のサイトカイン・ケモカイン遺伝子発現をreal time RT-PCR法にて検討した。

大動脈解離モデル：8週齢オスの野生型マウスの背部皮下に深麻酔下にてミニポンプを埋め込み、angiotensin II (1.4 mg/kg/d) を持続的に投与し大動脈解離を惹起した。Angiotensin II投与15日目に大動脈を採取してRNAを抽出し、種々のサイトカイン・ケモカイン遺伝子発現をreal time RT-PCR法にて検討した。

各疾患モデルから採取した試料について組織学的・免疫組織化学的に検討した。これらの実験結果を総合的に考察して各疾患発症・形成の分子メカニズムを検討し、これらに関与するサイトカイン・ケモカインを明らかにした。さらに、これらの結果に基づいて各疾患を診断するための指標の候補と考えられるいくつかの分子について、その遺伝子欠損マ

ウス (*CCL3*ならびに *IFN- γ* についての各遺伝子欠損マウス) を用いて各疾患を惹起させ、野生型マウスにおける実験成績と比較検討して各疾患発症・形成の分子機構を詳細に検討した。

結果および考察

大動脈瘤モデル：8週齢オスの野生型マウス (BL/6) を深麻酔下にて開腹し、左腎静脈直下の高さから腸骨動脈分岐部の高さまでの大動脈を周囲組織から剥離して、0.5 M 塩化カルシウム溶液に浸した脱脂綿を大動脈周囲に15分間置いた後、脱脂綿を取り除いて閉腹した。6週間後に大動脈を採取してRNAを抽出し、種々のサイトカイン・ケモカイン遺伝子発現を検討したところ、*CC chemokine ligand 3 (CCL3/MIP-1 α)* 発現がコントロールと比べて有意に亢進していた (図1)。

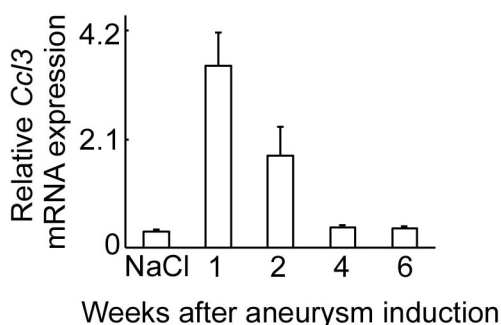


図1. 野生型マウスの腹部大動脈における *CCL3/MIP-1 α* 遺伝子発現

野生型マウスに CaCl_2 処置後1週間より、腹部大動脈における *CCL3/MIP-1 α* 遺伝子発現が著明に亢進していた。

そこで、*MIP-1 α* KO マウスを用いて同様に大動脈瘤を惹起したところ、野生型マウスと比べて大動脈瘤形成が有意に増強していた (表1)。

表1. 腹部大動脈の直径

Treatment	B6WT 0.25M CaCl_2	MIP-1 α -/- 0.25M CaCl_2
n=	10	8
Pretreatment (μm)	545 \pm 5.7	558 \pm 26.7
Posttreatment (μm)	725 \pm 15.4	980 \pm 89.4
AAA development (> 50%)	0 / 10 (0%)	5 / 8 (63%)
% increase	33 \pm 2.8	75.4 \pm 16**

** $P < 0.01$, compared with CaCl_2 – treated C57BL / 6 mice

したがって、大動脈瘤形成において *MIP-1 α* は重要な役割を担っていることが示唆された。

大動脈解離モデル：8週齢オスの野生型マウス（Balb/c）の背部皮下に深麻酔下にてミニポンプを埋め込み、angiotensin II（1.4 mg/kg/d）を持続的に投与し大動脈解離を惹起した。Angiotensin II 投与15日目に大動脈を採取してRNAを抽出し、種々のサイトカイン・ケモカイン遺伝子発現を検討したところ、*IFN- γ* 発現がコントロールと比べて有意に亢進していた（図2）。

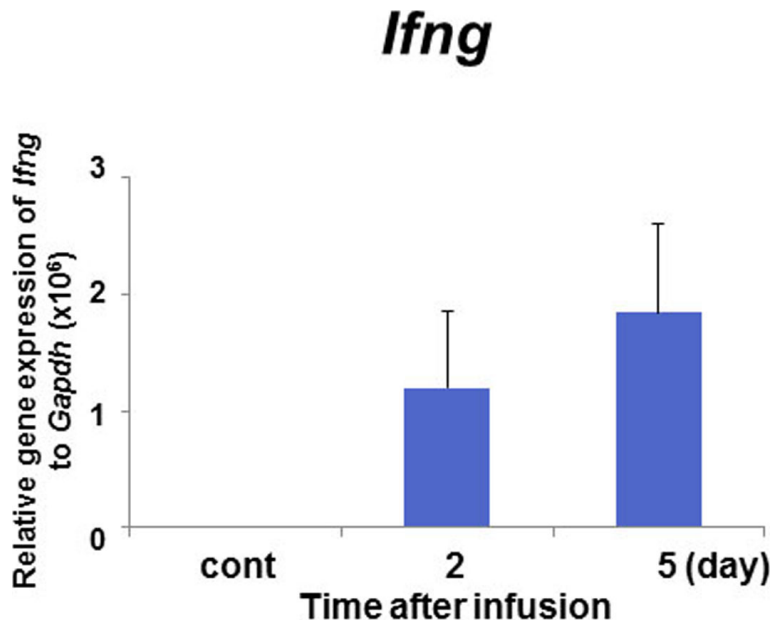


図2. 野生型マウスの大動脈における *IFN- γ* 遺伝子発現
angiotensin II 投与2日目以降において、大動脈における *IFN- γ* 遺伝子発現が著明に亢進していた。

そこで、*IFN- γ* KO マウスを用いて同様に大動脈解離を惹起したところ、野生型マウスと比べて有意に増悪しており、生存率も低下していた（図3、4）。

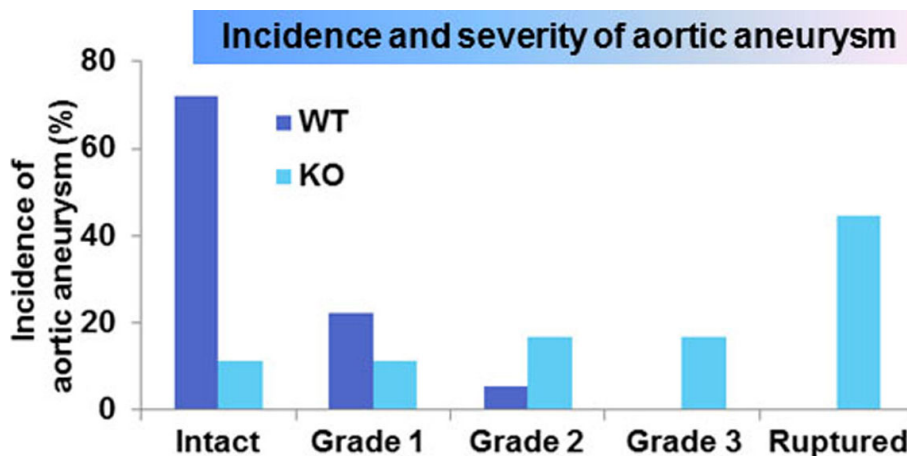


図3. 野生型マウス（WT）ならびに *IFN- γ* 遺伝子欠損マウス（KO）における大動脈解離の発生率および重症度（angiotensin II 投与15日目）

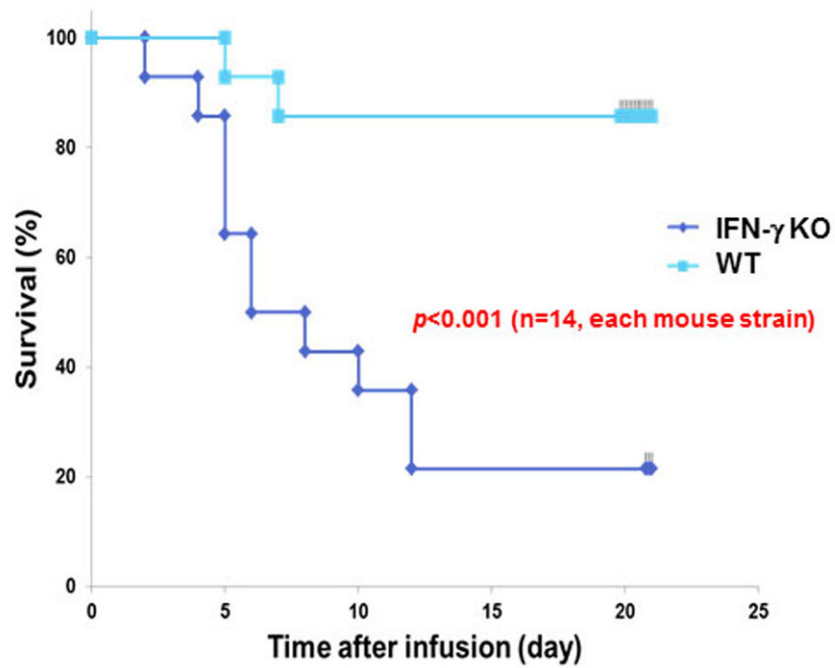


図4. 野生型マウス (WT) ならびに *IFN- γ* 遺伝子欠損マウス (KO) における生存率
Kaplan-Meier 法で各群の生存率を計算した後、ログランク検定で生存率の差を検定した。

したがって、大動脈解離において *IFN- γ* は重要な役割を担っていることが示唆された。