

新規病態モデルマウスを用いた大動脈中膜石灰化の分子機序解明

中尾恭久

愛媛大学大学院医学系研究科 循環器・呼吸器・腎高血圧内科学講座

【研究の背景】

血管石灰化は高齢者、糖尿病、慢性腎臓病患者に高頻度に認められ、心血管イベントおよび死亡率の独立した予測因子として知られている^{1,2)}。なかでも中膜動脈石灰化 (medial arterial calcification: MAC) は血管硬化を介して心血管負荷を増大させるが、その発症機序は内膜石灰化と比較して十分に解明されていない。近年、血管平滑筋細胞 (vascular smooth muscle cells: VSMCs) が骨・軟骨様細胞へと表現型転換 (骨軟骨様転化) する可能性が示唆されているものの、生体内でその過程を時系列かつ細胞レベルで解析できるモデルは限られている。従来の培養細胞系や薬剤誘導モデルでは、ヒト MAC の病態を十分に再現できないことが課題であった。

【目的】

本研究の目的は、O-ring 誘導型大動脈狭窄 (OTAC) モデル³⁾ を用いて中膜動脈石灰化を再現し、VSMCs の骨軟骨様転化過程およびその微小環境変化を、生体内・単一細胞レベルで解明することである。

【方法】

C57BL/6J マウスに OTAC 手技を施行し、術後 1、2、4、8 週における大動脈を解析した。組織学的評価として HE 染色、Alcian blue 染色、von Kossa 染色、Alizarin Red S 染色を行い、中膜石灰化および骨軟骨様細胞の出現を評価した。免疫組織化学および免疫蛍光染色により α -SMA、SOX9、RUNX2 の発現変化を解析した。さらに *Myh11-CreERT2; ROSA26-EGFP* マウスを用いた系譜追跡により、骨軟骨様細胞の起源を検討した。加えて、single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) および bulk RNA-seq を実施し、VSMCs および周辺細胞の遺伝子発現動態と細胞間相互作用を解析した。

【結果】

OTAC 施行後、中膜において時間依存的に骨軟骨様細胞の出現および石灰化形成が認められた。免疫染色では α -SMA 発現の低下と SOX9、RUNX2 発現の増加が確認され、VSMCs の表現型変化が示唆された。系譜追跡解析により、これらの骨軟骨様細胞は既存の収縮型 VSMCs から直接転化したものであることが明らかとなった。scRNA-seq 解析では、VSMCs の骨軟骨様転化に加え、線維芽細胞や免疫細胞の活性化など、石灰化を促進する局所微小環境の再構築が確認された。

【考察】

本研究により、OTAC モデルは中膜動脈石灰化を再現可能な新規 *in vivo* モデルであり、VSMCs の骨軟骨様転化が石灰化に先行して生じることが示された。これは、VSMCs の表現型可塑性が MAC の中核的機序である可能性を支持する知見である。また、scRNA-seq 解析により、VSMCs 単独ではなく周囲の線維芽細胞や免疫細胞との相互作用が病態形成に関与

することが示唆された。従来の単純化されたモデルでは捉えきれなかった生体内の複雑な細胞間関係を明らかにした点に本研究の意義がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究で確立した OTAC モデルは、中膜動脈石灰化の初期段階から進展過程を解析可能な実験基盤を提供する。VSMCs の骨軟骨様転化を標的とした新規治療戦略の開発や、石灰化進展を抑制する分子標的の探索に応用可能であり、糖尿病や慢性腎臓病患者における心血管イベント予防に貢献することが期待される。

【参考・引用文献】

1. Shanahan CM, et al. Medial localization of mineralization-regulating proteins in association with Mönckeberg's sclerosis: evidence for smooth muscle cell-mediated vascular calcification. *Circulation*. 1999;100:2168–2176.
2. Durham AL, Speer MY, Scatena M, Giachelli CM, Shanahan CM. Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness. *Cardiovasc Res*. 2018;114:590–600.
3. Nakao Y, et al. O-ring-induced transverse aortic constriction is a new simple method to develop cardiac hypertrophy and heart failure in mice. *Sci Rep*. 2022;12:85.