動脈硬化の遺伝素因の分析*

——正常血圧性動脈硬化易発症ラット (NAR) の分離——

家 森 幸 男** 堀 江 良 —***

I. はじめに

1974年家森は高血圧ラット (SHR, DOCA 高血圧ラット, 腎梗塞性高血圧ラット etc.) に高脂肪食を与えた場合, その腸間膜動脈に1~2週間で輪状の脂肪沈着をきたすことを発見した¹⁾. さらに Barium Sudan Staining Method (BCSS 法) の考案により, 脳動脈にも同様の脂肪沈着をきたすことが判明した^{2,3)}. 一方脳動脈におけるその脂肪沈着の病理発生解明を目的とした三つの実験システム (YAMORI'S Preparation I, II and III)^{4,5)} ならびに高血圧を有し, 高脂血症をきたしやすいモデル動物 Arteriolipidosis-prone rats (ALR: 家森, 1976)⁶⁾ の確立によって ①高血圧 ②高脂血症 ③hemodynamic derangement ④遺伝素因の重要性が実証された. 今回は腸間膜動脈のみならず脳の動脈にも正常血圧でさえ脂肪沈着をきたしやすい新しいモデル動物 Normotensive Atherogenic Rats (NAR, 家森・堀江)⁷⁾ の分離を行ない動脈硬化の遺伝素因の本格的な分析を行なう手掛をえた.

II. 実験方法

1. 正常血圧ラットの系統差の検出

Table 1 にあげた正常血圧ラット6系統の雄, それぞれ20匹を生後30日より1年間, 高脂肪コレステロール食 (HFC 食: 5% コレステロール, 20% 牛脂, 2% 胆汁酸含有)³⁾ で飼育し, 血圧を間接法 (tail-pulse-pickup 法)⁸⁾ で血清コレステロールは Zurkowski 法³⁾ で繰返し測定した後屠殺し, 脳動脈と腸間膜動脈の脂肪沈着をそれぞれ BCSS

法^{2,3)} と血管摘出後の Sudan 染色で検出した.

2. 正常血圧ラットと脳卒中易発症ラット (SHRSP) の交雑による F₂ 世代の脂肪沈着

上記の実験により正常血圧ラットの中でも比較的動脈壁に脂肪沈着を来たしやすい Wistar-Kyoto (WKY) の雄 (血圧 135 mmHg) を選び3匹の SHRSP (A₁-sb) 雌 (血圧 180, 190, 192 mmHg) と交配した. 得られた F₁ を互に交配し F₂ をえ, 生後60日から3か月間上記の HFC 食を負荷し同様の方法で血圧血清コレステロールおよび動脈脂肪沈着の程度を観察した.

III. 実験結果

1. 動脈脂肪沈着の系統差

SHR の選択交配の出発点となった WKY は Table 1 に示すように他の Wistar およびその近縁系に比較し, 血圧には全体としては有意差はないが, 反応性高脂血症がやや強く, Wistar-King, Sprague-Dawley に比べて有意に高い血清コレステロール値を示した. さらに WKY のみ脳, 腸間膜動脈にそれぞれ20匹中, 1と3匹 (5 および 15 %) に脂肪沈着がみとめられた.

2. 正常血圧と高血圧ラットの交配による F₂ 分離世代の脂肪沈着

WKY と SHR の中でも比較的早期に動脈脂肪沈着を来たしやすい SHRSP の A₁-sb 系とを交配し, F₁, F₂ をえた. F₂ 世代の高脂肪食負荷後の平均の血圧は 143±3 mmHg, 血清コレステロール値は 375±36 mmHg であり脳, 腸間膜動脈には26例中それぞれ11と15匹 (42.58%) に脂肪沈着がみとめられた. Table 2 の如く F₂ のうち脳動脈に脂肪沈着のみとめられたラットは脂肪沈着のなかった個体に比べて血圧は有意の差がなく血清コ

* 1979年6月, 第11回日本動脈硬化学会において発表

** 島根医科大学病理学教室

*** 同脳神経外科学教室

Table 1 Arterial fat deposition in cerebral and mesenteric arteries in male rats of various normotensive strains after fed on a hypercholesterolemic diet for 1 year from the age of 30 days

Strain (No. of rats)	Wistar-Carwarth (20)	Wistar-HLA (20)	Wistar-King (20)	Wistar-Kyoto (20)	Sprague Dawley (20)	Donryu (20)
Fat deposition (%)						
cerebral arteries	0	0	0	5	0	0
mesenteric arteries	0	0	0	15	0	0
Serum cholesterol (mg/dl) M±SE	390±59	318±6	234±36	491±26*	277±13	368±27

*: Significant difference from Sprague-Dawley or Wistar-King ($p<0.01$)**Table 2** Blood pressure and serum cholesterol levels in the rats with and without arterial fat deposits in cerebral arteries among F₂ generation

Fat Deposition (No. of rats)	+	-
	(11)	(15)
Blood Pressure (mmHg, M±SE)	137±2	147±2
Serum Cholesterol (mg/dl, M±SE)	457±60	304±32

レステロール値はやや高い値を示したが有意ではなかった。

IV. 考察ならびに結論

すでに SHR や Wistar 系ラットの中より反応性高脂症の強いラットを選び出す試みを行ない SHR より HFC 食の負荷で雄は約 500 mg/dl, 雌は約 800 mg/dl の強い高脂血症を共に動脈に脂肪沈着を来しやすい系統 ALR⁶⁾ を分離, SHR⁹⁾ や ALR¹⁰⁾ の脂質代謝の特徴も明らかにしてきた。すなわち ALR では SHR より腸管からの脂質の吸収亢進とコレステロール排出の遅延が認められている¹⁰⁾。今回正常血圧ラットと SHR のうち、比較的動脈に脂質の沈着を来しやすい WKY と SHRSP とを出発点とし交雑実験を行ない F₂ 分離世代の中に高血圧はないが動脈に脂肪沈着を来す個体はかなり多く出現することを確認し、かかる動脈硬化素因が高血圧の遺伝と分離しうることをはじめて証明した。現在かかる F₂ 世代の継続によって「正常血圧性動脈硬化易発症ラット」(NAR) の分離から系統として確立への努力がなされており、NAR は動脈硬化の遺伝素因の分析

に恰好の材料と期待される。

文 献

- 1) Yamori, Y.: Metabolic pathology of vasculatures in hypertension and vascular lesions in spontaneously hypertensive rats. *Trans. Soc. Pathol. Jap.*, **63**: 226-227 (1974).
- 2) Yamori, Y., Horie, R., Handa, H. and Sato, M.: Experimental system for acute arterial fat deposition—Yamori's preparation I—. *Jap. Heart J.*, **17**: 387-389 (1976).
- 3) Yamori, Y., Horie, R., Sato, M. and Fukase, M.: Hypertension as an important factor for cerebrovascular atherogenesis in rats. *Stroke*, **7**: 120-125 (1976).
- 4) Yamori, Y., Horie, R., Sato, M. and Fukase, M.: Hemodynamic derangement for the induction of cerebrovascular fat deposition in normotensive rats on a hypercholesterolemic diet. *Stroke*, **7**: 385-389 (1976).
- 5) Yamori, Y., Horie, R., Ohtaka, M., Nara, Y., Ohta, K., Okamoto, K., Handa, H. and Fukase, M.: Pathogenic approach to the prophylaxis of stroke and atherogenesis in SHR. In "Spontaneous Hypertension: Its Pathogenesis and Complications. DHEW Publication No. (NIH) 77-1179, p 269-278 (1977).
- 6) Yamori, Y.: A selection of arteriolipidosis-prone rats (ALR). *Jap. Heart J.*, **18**: 602 (1977).
- 7) Yamori, Y. and Horie, R.: Development of normotensive atherogenic rats. In "Prophylactic Approach to Hypertensive Diseases (Y. Yamori, W. Lovenberg, E. Freis, eds.), p. 127-134, Raven Press, New York. (1979).
- 8) Yamori, Y., Tomimoto, K., Ooshima, A., Hazama, F. and Okamoto, K.: Developmental course of hypertension in the SHR—substrains susceptible to hypertensive cerebrovascular lesions. *Jap. Heart J.*, **15**: 209-210 (1974).
- 9) Iritani, N., Fukuda, E., Nara, Y. and Yamori, Y.: Lipid metabolism in spontaneously hypertensive

rats (SHR). Atherosclerosis, **28**: 217-222 (1977).
10) Yamori, Y., Iritani, N., Nara, Y., Horie, R.,
Fukuda, E. and Kitamura, Y.: Cholesterol metabo-

lism of arteriolipidosis-prone rats (ALR). Jap.
Heart J., **20** (Sup. I: 349-351) (1979).

討 論

質問 大根田玄寿 (群馬大学病理)

NAR の脂質は、内膜の泡沫細胞の中と、中膜筋細胞の中に見られたのですか。脂質沈着は segmental ですか。なぜ segmental に起こるのですか。それは spasm が関係しているのですか。NAR の甲状腺の機能は低下していましたか。

回答 家森幸男

1) 正常血圧ラットで高脂肪食を 負荷した場合、動脈脂肪沈着はみられません。高血圧ラットのうち、動脈脂肪沈着をきたしやすい ALR ないし

SHRSP と Wister-Kyoto を交配して得た F₂ 世代のラットのうち、正常血圧であっても脳底や腸間膜動脈内膜・中膜に脂肪沈着をきたすものがあります。

2) 分節状に生じる理由は、やはり動脈の狭窄と拡張などが透過性亢進の寄与していると思われます。除神経しますと、分節状の動脈脂肪沈着が生じにくいのは、神経性動脈狭窄の重要性を示していると考えます。甲状腺機能はしらべておりません。

Summary

Analysis of Genetic Factors of Atherogenesis —Separation of Normotensive Atherogenic Rats (NAR)—

Yukio YAMORI* and Ryoichi HORIE**

Departments of Pathology* and neurosurgery** Shimane Medical University

Since typical rapid arterial fat deposition was first noted in hypertensive rats (SHR, DOCA-salt or renal hypertensive rats) within one or two weeks of high-fat-cholesterol (HFC) diet feeding by Yamori in 1974¹⁾, experimental studies on atherogenesis in rats have made a great progress. Especially, the exploitation of a simple method to detect arterial fat deposits in cerebrovascular system (Barium Contrasted Sudan Staining (BCSS) Method)^{2,3)} has enabled us to investigate factors affecting cerebrovascular atherogenesis such as hypertension³⁾ local hemodynamic derangements⁴⁾ and hyperlipidemia⁵⁾. Moreover, the establishment of arteriolipidosis-prone rats (ALR)⁶⁾ by the selection of substrains of SHR which showed a greater reactive hypercholesterolemia indicated the involvement of genetic factors in atherogenesis. In order to analyze genetic factors of atherogenesis, we have attempted to isolate genetic factors of arterial fat deposition from hypertension by separating the colony of normotensive rats which are prone to develop cerebrovascular fat deposits within a short period⁷⁾.

Strain difference in arterial fat deposition in normotensive rats

Six strains of normotensive rats, 20 rats of each, were fed on an HFC diet (containing 5% cholesterol, 20% suet and 2% cholic acid)³⁾ for 1 year from the age of 30 days. After blood pressure⁸⁾ and serum cholesterol level³⁾ were repeatedly checked, the animals were sacrificed to detect fat deposits in cerebral and mesenteric arteries by BCSS method. Fat deposits were noted only in Wistar-Kyoto (WK) rats, of which 5 and 15% developed fat deposits in cerebral and mesenteric arteries, respectively.

Fat deposition in F₂ generation obtained by the cross-breeding between normotensive rats and stroke-prone SHR (SHRSP)

Therefore, the normotensive WK rats which

were proven to be a little more sensitive to fat deposition were mated with 3 female SHRSP with blood pressure 180, 190 and 192 mmHg, respectively, to obtain F₁ generation from which F₂ generation was further produced, and blood pressure, serum cholesterol levels and arterial fat deposits were checked as mentioned above. Blood pressure and cholesterol levels in average in F₂ generation were 143 ± 3 mmHg ($M \pm SE$) and 375 ± 36 mg/dl, respectively, after the HFC diet feeding for 3 weeks. Fat deposits in mesenteric and cerebral arteries were noted in 15 and 11 rats out of 26 (58 and 42%), respectively. The F₂ rats with cerebrovascular fat deposits showed no difference in blood pressure from those without fat deposits (137 ± 2 vs. 147 ± 2 mmHg), but a slightly higher cholesterol level than the latter group (457 ± 60 vs. 304 ± 32 mg/dl).

Summary with Discussion

The establishment of ALR⁶⁾ which quickly develop hypercholesterolemia (500 and 800 mg/dl) within a week of HFC diet feeding indicates that genetic abnormality related to hypercholesterolemia (increased intestinal cholesterol absorption and decreased catabolism)^{9,10)} is involved in the proneness to arterial fat deposition, the initial step of atherogenesis. The present experiment has demonstrated that arterial fat deposition develop in F₂ generation without hypertension, indicating that the proneness to arterial fat deposition can be genetically separated from the heredity of hypertension. These normotensive F₂ rats with arteriolipidosis are hopefully continued to be bred until the establishment of the inbred strain of "normotensive atherogenic rats (NAR)", the proper model for the analyses on the heredity of atherogenesis.

Key words: Atherosclerosis, Hypertension Hypercholesterolemia, SHR Stroke-prone SHR