

審査の結果の要旨

氏名 二階堂 洋史

本研究において、くも膜下出血 (SAH)後の遅発性脳血管攣縮の病態における分子機構はいまだ解明されていないため、脳血管攣縮関連遺伝子の探索を行い、Heat shock protein 72 (HSP72)が脳血管攣縮の程度に相関し誘導されることを見いだした。さらに HSP72 における遅発性脳血管攣縮の治療的役割を中心に研究を行った。今回の研究により、下記の結果を得ている。

1. ラット自家動脈血 SAH モデルを確立し、Fluorescent Differential Display (FDD)法によりその遺伝子発現プロファイルと比較検討し、脳血管攣縮関連遺伝子について検索し、解析を行った。脳血管攣縮が最も強く生じる1日目 (Day 1)から Day 3 の脳底動脈における mRNA の発現プロファイルと比較検討した。primer 数を 100 組使用し解析した結果、総数 12023 bands のうち 1061 bands に遺伝子発現の変化を認めた。これらの塩基配列を解析した結果、脳血管攣縮と相関が強く示唆された既知の遺伝子が 110 genes 見つかった。そのうち up regulation していた遺伝子は 100 genes (90.9%)、down regulation していた遺伝子は 10 genes (9.09%)であった。今回 heat shock protein 72 (HSP72)に注目し、その分子機構の解析を行った。
2. 脳血管撮影においてラット脳血管攣縮は SAH 後 Day 1 から出現し、Day 2 に最大の血管狭窄となり、その後次第に狭窄は寛解し Day 7 には改善した。RT-PCR、Real-time RT-PCR および Western blot において脳底動脈に HSP72 の誘導が Day 1 から Day 2 にかけて強く認められた。
3. HSP72 の分子機構を検討するために antisense HSP72 oligodeoxynucleotide (ODN)、sense HSP72 ODN をラット大槽内に投与し、脳血管攣縮における役割を解析した。RT-PCR、Real-time RT-PCR および

Western blot において、antisense HSP72 ODN 投与により、SAH 後 Day 1-2 に発現した HSP72 誘導は抑制されていた。脳血管撮影では antisense HSP72 ODN 投与により、Day 1 から Day 5 にかけて脳血管攣縮が顕著に悪化し、統計学的には Day 2 と Day 3 に有意差を認めた。以上の結果から antisense HSP72 ODN 投与による HSP72 発現誘導の特異的抑制により SAH 後脳血管攣縮を増加させた。

4. HSP72 を誘導させる消化性潰瘍治療薬、geranylgeranylacetone (GGA) をラットに経口投与したところ、RT-PCR において脳底動脈に HSP72 の誘導が確認された。今回、SAH 後 GGA を投与したところ、RT-PCR、および Western blot において、脳底動脈に HSP72 の誘導が増強された。さらに脳血管撮影においては脳血管攣縮が Day 1 から Day 3 にかけて寛解された。以上の結果から GGA 経口投与は HSP72 誘導増強を介して脳血管攣縮を改善させた。

以上、本論文はラット SAH 後の遅発性脳血管攣縮モデルにおいて、HSP72 の分子機構の解析から、HSP72 は脳血管攣縮に対して拮抗的に作用しており、HSP72 の誘導が脳血管攣縮治療の一手段となることが示唆された。SAH 後の遅発性脳血管攣縮の病態における分子機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。