氏　　　名	森　脇　拓　也（もり わき たく や）
学位(専攻分野)	博　士（医　学）
学 位 記 番 号	医　博　第 2987 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学位論文題目	Impaired Progression of Cerebral Aneurysms in Interleukin-1β-deficient Mice （インターロイキン-1ベータ遺伝子欠損マウスでは，脳動脈瘤の進展が抑制される）
論文調査委員	（主 査）教 授 三 森 経 世　　教 授 長 澤 丘 司　　教 授 横 出 正 之

論　文　内　容　の　要　旨

脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血は，治療方法が向上してきた現在でさえ生命に関わる緊急性のある疾患として広く知られている。しかしながら脳動脈瘤の発生や増大，そして破裂に関してはほとんど解っていないのが現状である。当施設では今までにラットやサル，あるいはマウスと言った動物に脳動脈瘤を発生させ，それに対する研究報告を行ってきた。Interleukin-1β は重要な炎症の惹起物質であり，これが種々の疾患の治療点になる可能性があるとして実験的に注目されている物質であり，脳動脈瘤発生における役割を実験的に検討することにした。

まず，雄性 C57BL/6 に対し，脳動脈瘤誘発処置を加え，その発現と脳動脈瘤の進展に関して考察することにした。免疫組織学的に評価を行ったところ，Interleukin-1β の発現は脳動脈瘤発生が認められる前大脳動脈-嗅動脈分岐部の平滑筋層内を中心に認められた。さらに同部位の血管を homogenate して得た RNA について，RT-PCR を行って発現量の比較を行ったところ，通常のラットモデルでは大きく外側に膨らむ脳動脈瘤を生じる時期（3ヶ月齢）や未処置コントロールと比較して，2週齢の時期で発現が上昇していることがわかった。これはラットでは脳動脈瘤の初期変化を生じる時期であり，脳動脈瘤の形成初期に Interleukin-1β が発現することが脳動脈瘤の初期変化と関連があるという可能性が考えられた。

これを実験的に検討するため，遺伝子 knockout mouse を用いて実験を行うこととした。5～6週齢の wildtype，IL-1β（−/−）マウスに対し，脳動脈瘤誘発処置を加えて5ヵ月後に sacrifice しその発生率を検討したところ，脳動脈瘤の変化の確率（(初期変化形成群＋脳動脈瘤群)/全数）には wildtype 群，IL-1β（−/−）群ともに差を認めなかったものの，脳動脈瘤の発展率（脳動脈瘤群/全数）に関しては有意に差を認めた。この要因の考察としてアポトーシスのマーカーとなる TUNEL，ssDNA の免疫染色を行ったところ，平滑筋内でのアポトーシスは，IL-1β（−/−）群で wildtype 群に比べて有意に抑制されていた。また，Cleaved caspase-3，Bcl-2 では免疫染色上差を認めることができなかった。同時に行った Caspase-1 の免疫染色では，逆に IL-1β（−/−）群で，wildtype 群に比べて内皮細胞内での発現の上昇を認めた。以上から Interleukin-1β の発現は脳動脈瘤の進展や増大に関わる因子である可能性が示唆され，そのメカニズムにアポトーシスが関与していることが疑われた。

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

Interleukin-1β（IL-1β）は重要な炎症の惹起物質であり，阻害により種々の疾患の治療点になる可能性があるとして注目されている。今回 IL-1β の脳動脈瘤発生増大における役割を実験的に検討した。

オスの C57BL/6 に対し，片側の内頚動脈と両側腎動脈後枝の結紮及び 8% NaCl と0.12% BAPN の投与を行って脳動脈瘤を誘導し，IL-1β の時間的空間的発現の評価を行った。IL-1β 蛋白発現は脳動脈瘤が発生する前大脳動脈-嗅動脈分岐部の平滑筋層内を中心に認められた。さらに脳動脈瘤の初期変化を生じる処置後2週間の時期で IL-1β mRNA の発現が上昇していた。次に IL-1βknockout mouse を用い脳動脈瘤誘発処置後の脳動脈瘤の発生および増大を経時的に検討した。IL

-1β（－/－）群で wild type 群に比べ脳動脈瘤誘発処置５ヵ月後において脳動脈瘤発生頻度には有意差を認めなかったものの脳動脈瘤の増大頻度に関しては有意差を認めた。また，アポトーシスの指標として TUNEL，ssDNA の免疫染色を行ったところ，平滑筋内でのアポトーシスの発生は，IL-1β（－/－）群で wild type 群に比べて有意に抑制されていた。同時に行った Caspase-1 の免疫染色では，逆に IL-1β（－/－）群で，wildtype 群に比べて内皮での発現の上昇を認めた。以上から IL-1β の発現は脳動脈瘤の進展や増大に関わる因子として働き，その機構に平滑筋細胞のアポトーシスの誘導が関与していることが示唆された。

以上の研究は脳動脈瘤の発生，増大に関わる機構の解明に貢献するところが多い。

したがって，本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお，本学位授与申請者は，平成18年２月28日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け，合格と認められたものである。