

京都大学	博士 (医学)	氏名	藤本 基秋
論文題目	Tissue inhibitor of metalloproteinases protect blood-brain barrier disruption in focal cerebral ischemia (脳虚血における TIMPs の BBB 保護効果)		
(論文内容の要旨)			
<p>脳虚血・虚血後再灌流は Blood Brain Barrier (BBB)破綻により脳浮腫を引き起こし、脳組織障害を増強する。BBB 破綻には、これまで様々なメカニズムが提唱されているが、Matrix metalloproteinases (MMPs), 特に MMP-2, -9 の活性化が、中心的な役割を果たしていることが報告されている。MMPs の活性化は脳浮腫に加え、出血性変化や apoptosis を引き起こすことについても多くの研究がなされてきた。現在、脳虚血後の脳浮腫は 2 相性に起こると考えられており、第 1 相は虚血後数時間後に MMP-2 の上昇により引き起こされ、続いて第 2 相は虚血後 24 時間から 48 時間後に、増大した MMP-9 によって引き起こされる。MMPs の活性化と酵素活性は一般的に tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMPs)によって制御されている。MMPs は脳虚血に加え、糖尿病、アルツハイマー病、動脈硬化など様々な病態で上昇することが知られ TIMPs は治療ターゲットの一つとして注目されてきた。TIMPs は TIMP-1, -2, -3, -4 に分類され、一般的に活性型の MMPs を抑制する一方、TIMP-1 が pro MMP-9 の活性化を抑制し、TIMP-2 は pro MMP-2 の活性化を促進することも報告されている。しかし脳虚血後 TIMPs の発現、及びその機能については十分解明されていない。そこで一過性のマウス中大脳動脈閉塞モデルを用い、脳虚血後 MMPs/TIMPs の経時的な発現を検討した。虚血・再還流 3 時間後に MMP-2, -9 が、24 時間後には、MMP-9 に加え、TIMP-1 の発現が有意に上昇することが解った。TIMP-2, -3, -4 については変化がみられなかった。その結果から TIMP-1 と、pro MMP-2 の活性化に関与する TIMP-2 に注目し、TIMP-1, -2 knock out マウスを用いて、MMPs の発現、vasogenic edema, apoptosis、更には神経細胞死への影響について解析を行った。その結果、TIMP-1 knock out mice では虚血・再還流 24 時間後に MMP-9 の発現と活性化が有意に増強していた。MMP-2 の変化は認められなかった。また Evans Blue の漏出が増強することや、tight junction protein である ZO-1 の発現量減少から、vasogenic edema の増大が考えられた。更に TUNEL 陽性細胞密度や cleaved caspase-3 で示されるアポトーシスによる神経細胞死までも増悪していることが判明した。一方 TIMP-2 knock out mice では、Evans Blue の漏出は増大しているものの、MMP-2, -9 の発現、活性化、更に神経細胞死についても、Wild type と有意差は認められなかった。これらの実験結果より TIMP-1 は虚血後の神経保護作用を呈し、また脳浮腫第 2 相に作用する MMP-9 の抑制作用を介して、BBB の破綻を制御していることが示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

脳虚血・虚血後再灌流における血液脳関門(Blood Brain Barrier、以下 BBB)破綻には、Matrix metalloproteinases(MMPs)が、中心的な役割を果たしている。その酵素活性は一般的に tissue inhibitor of metalloproteinases(TIMPs)によって制御されているが、脳虚血における TIMPs の発現、及びその機能は十分解明されていない。そこでマウスの一過性中大脳動脈閉塞モデルを用い、これらの発現を解析し、更にノックアウトマウスを用いて TIMPs の役割を検討した。その結果、虚血・再還流 24 時間後には、MMP-9 に加え、TIMP-1 の発現量が有意に増加することが判明した。また TIMP-1 ノックアウトマウスでは虚血・再還流 24 時間後に MMP-9 の発現量と活性が有意に上昇しており、更に色素漏出の増大や、タイトジャンクションタンパク質である ZO-1 の発現量減少より、血管原性浮腫が増強していると考えられた。一方 TIMP-2 ノックアウトマウスでは、色素漏出の増大のみが認められた。これらの結果より TIMP-1 は虚血後の神経保護作用を呈し、また脳浮腫を促進する MMP-9 の抑制作用を介して、BBB の破綻を制御していることが示唆された。

以上の研究は脳虚血・再灌流後における TIMP-1,2 の機能解析を通して虚血性神経細胞死のメカニズム解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 21 年 3 月 6 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降