

京都大学	博士 (医学)	氏名	服部 頼 都
論文題目	Silent Information Regulator 2 Homolog 1 Counters Cerebral Hypoperfusion Injury by Deacetylating Endothelial Nitric Oxide Synthase (哺乳類サーチュイン SIRT1 による内皮型一酸化窒素合成酵素の脱アセチル化により脳は低灌流傷害への抵抗性を獲得する)		
(論文内容の要旨) 【背景】 長寿遺伝子と称される哺乳類サーチュインの1つ SIRT1 は、クラス III ヒストンを脱アセチル化し遺伝子の発現を負に制御すると同時に、その他の基質 (p53、PGC-1 α 、NF- κ B など) を脱アセチル化することで、抗アポトーシス、抗炎症、ミトコンドリア活性化などの効果などを発揮し、最終的に寿命の延長に寄与することが報告されている。これまで心血管障害、神経変性疾患においても、遺伝子の発現抑制以外の作用を介して細胞保護効果を認めることが報告されてきた。 【目的】 本研究では、SIRT1 の脳虚血抵抗性への寄与を検討するために、血管性認知症モデルである慢性脳低灌流モデルマウスを使用し、SIRT1 が白質病変および認知機能障害を軽減するかどうかを検討した。 【方法】 プリオンプロモーター制御下に神経細胞と血管内皮に SIRT1 が過剰に発現するマウスと同腹仔の野生型マウスの両側総頸動脈に内径 0.18 mm の微小コイルを装着する手術を行うことで脳低灌流を誘導し、その表現型を比較検討した。術後 28 日の時点で、8 方向放射状迷路試験で認知機能を評価した。また同時点における白質変化を免疫組織化学とクリューバー・バレラ染色により評価した。次に、野生型マウスでは手術後 2 時間で脳血流量が術前の 70~80%まで低下することがすでに報告されているため、術後 2 時間における毛細血管、神経細胞の微小構造を電子顕微鏡で観察した。また、術後の脳血流量の継時的変化をレーザースペックル脳血流画像化法により解析した。さらに、内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) 作動薬であるアセチルコリンを脳表へ灌流し血管反応性を解析し、eNOS の脳内発現量をウェスタンブロット法により定量した。 【結果】 SIRT1 過剰発現マウスにおいて、野生型マウスの手術後に観察される作業記憶障害が有意に軽減した。また、白質における星状膠細胞・小膠細胞の活性化や乏突起膠細胞の減少も有意に抑制された。白質粗鬆化も有意に抑制され SIRT1 による白質保護効果が示された。電子顕微鏡による観察では、術後 2 時間の野生型マウスでは、大部分の毛細血管内皮の密着結合が開いており、神経細胞が萎縮していたが、SIRT1 過剰発現マウスにおいては上記の所見を認めず、正常であった。脳血流量測定において、野生型マウスでは、術後急性期に術前の 70~75%にまで血流低下を示し、以後は術前の 80~85% の低灌流状態が持続した。一方、SIRT1 過剰発現マウスにおいては、術後は一貫して脳血流量は維持された。この脳血流量維持効果は、SIRT1 阻害剤投与によって完全に消滅した。アセチルコリン脳表灌流において、野生型と比較して SIRT1 過剰発現マウスでは、有意に脳血流量増加を認め、脳表動脈径の増大を認めた。術後 2 時間におけるマウスの脳では、eNOS タンパク質総量に両群間で差異は認めなかったが、SIRT1 過剰発現マウスでは、アセチル化 eNOS が有意に減少し、非アセチル化 eNOS が有意に増加していた。さらに、SIRT1 過剰発現マウスに eNOS 阻害剤を投与した後に手術を行うと、野生型と同程度の術後 2 時間の脳血流低下を示した。			

【結論】以上の結果より、SIRT1 は eNOS を脱アセチル化して活性化することで両側総頸動脈狭窄術後において脳血流維持効果を示し、白質病変および認知機能障害を軽減することが示された。SIRT1 は、将来、血管性認知症の新しい予防法・治療法のターゲットとなり得る。

(論文審査の結果の要旨)

長寿遺伝子と称される SIRT1 は、基質を脱アセチル化することで、抗アポトーシス、抗炎症、ミトコンドリア活性化などの効果を発揮し、寿命の延長、心血管障害・神経変性疾患の治療に寄与すると報告されてきた。本研究では、SIRT1 の脳虚血抵抗性への寄与を検討した。

プリオンプロモーター制御下に神経細胞と血管内皮に SIRT1 を過剰発現するマウス (Sirt1-Tg) と同腹仔の野生型マウスに両側総頸動脈狭窄術 (BCAS) によって脳低灌流を誘導した。術後 1 か月で野生型マウスでは作業記憶低下と大脳白質傷害が観察されたが、Sirt1-Tg マウスではこれらの異常を認めなかった。この相違は、野生型で BCAS では脳低灌流が誘導されるのに対し、Sirt1-Tg マウスでは脳血流量が維持されることによるものと考えられた。この機序を解明するために手術後の脳の内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) のタンパク質を定量したところ、非アセチル化 eNOS の発現が野生型より Sirt1-Tg マウスで増加していた。Sirt1-Tg マウスに eNOS 阻害剤を投与して BCAS 手術を行うと野生型と同様の脳血流低下を示した。上記の結果より、SIRT1 は eNOS を脱アセチル化して活性化することで脳血流維持に寄与することが判明した。

以上の研究は、血管性認知症の解明に貢献し、SIRT1 を標的とした新規治療法と予防法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 27 年 2 月 16 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。