

氏 名	さだ まさ のぶ たけ
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2715 号
学位授与の日付	平 成 16 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 学 系 専 攻
学位論文題目	Disruption of Gene for Inducible Nitric Oxide Synthase Reduces Progression of Cerebral Aneurysms (誘導型一酸化窒素合成酵素遺伝子欠損は、脳動脈瘤の進行を抑制する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 金 子 武 嗣 教 授 福 山 秀 直 教 授 橋 本 信 夫

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】脳動脈瘤の発生、増大、破裂のメカニズムについては不明な点が多い。福田らは以前に、NO合成酵素の一つである誘導型一酸化窒素合成酵素 (inducible nitric oxide synthase; iNOS) が脳動脈瘤に発現しており、その阻害剤であるアミノグアニジンをラットに投与した際に実験的脳動脈瘤の発生が抑制されることを報告した。今回の実験では脳動脈瘤発生、増大における iNOS 遺伝子の関与を確認する目的で、遺伝子ノックアウトマウスに対し脳動脈瘤誘発処置を行い、その効果を検討した。

【方法】野生型 C57B16 マウス (以下 WT 群) と iNOS ノックアウトマウス (以下 KO 群) は米 Taconic 社より購入した。7 週齢のマウス (WT 群: n = 8, KO 群: n = 16) に対し、実験的脳動脈瘤誘発処置 (左頸動脈結紮と両側腎動脈分枝結紮) を行った後、8%食塩と0.12% beta-aminopropionitrile 含有食餌を負荷した。4ヶ月後に sacrifice し、前大脳動脈-嗅動脈分岐部の脳動脈瘤数を測定した。また、iNOS 蛋白、血管平滑筋細胞のマーカーである alpha smooth muscle actin, アポトーシスのマーカーの一つである single-stranded DNA の発現の確認は免疫染色にて行った。

【結果】WT 群と KO 群との間の比較で、実験的脳動脈瘤の発生頻度には有意差を認めなかった。一方、両群の進行期脳動脈瘤の大きさについて検討したところ、KO 群で有意に小さかった ($32.7\mu\text{m}$ vs $12.7\mu\text{m}$, $p=0.0002$)。また、アポトーシス変化を来している血管平滑筋細胞数を測定すると、KO 群で有意に少なかった (平均 $72.7\mu\text{m}$ vs $28.7\mu\text{m}$, $p=0.0003$)。

【結論】iNOS は脳動脈瘤発生にとって必要条件ではないが、脳動脈瘤の増大に関する重要な因子の1つである可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

脳動脈瘤の発生、増大、破裂の機序については不明な点が多い。本研究では脳動脈瘤発生、増大における誘導型一酸化窒素合成酵素遺伝子の関与を確認する目的で、誘導型一酸化窒素合成酵素遺伝子ノックアウトマウスに対し脳動脈瘤誘発処置を行い、その効果を検討した。

野生型マウス (以下 WT 群) と誘導型一酸化窒素合成酵素遺伝子ノックアウトマウス (以下 KO 群) に対し、実験的脳動脈瘤誘発装置 (左頸動脈結紮と両側腎動脈分枝結紮) を行った後、8%食塩と0.12%ベータアミノプロピオニトリル含有食餌を負荷した。4ヶ月後に、前大脳動脈-嗅動脈分岐部に生じた脳動脈瘤数を測定した。また、誘導型一酸化窒素合成酵素蛋白、血管平滑筋細胞のマーカーであるアルファ平滑筋アクチン、アポトーシスのマーカーの一つである一本鎖 DNA の発現の確認は免疫染色にて行った。WT 群と KO 群との間の比較で、実験的脳動脈瘤の発生頻度には有意差を認めなかった。一方、両群の進行期脳動脈瘤の大きさについて検討したところ、KO 群で有意に小さく、アポトーシス変化を来している血管平滑筋細胞数は KO 群で有意に少なかった。以上より、誘導型一酸化窒素合成酵素は脳動脈瘤発生にとって必要条件ではないが、脳動脈瘤の増大に関する重要な因子の1つである可能性が示唆された。

以上の研究は、脳動脈瘤の発生と増大の機序の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16年1月27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。