京都大学	博士（医学）	氏　名	小山田　尚史
論文題目	The Role of Mineralocorticoid Receptor Expression in Brain Remodeling after Cerebral Ischemia （脳梗塞後の組織再生におけるミネラルコルコイド受容体の意義に関する研究）		

（論文内容の要旨）

ミネラルコルチコイド受容体（MR）は、従来、腎遠位尿細管、集合管に存在し、主に水や電解質バランスの調整に与ると考えられてきた。しかし、近年、MRは心臓・血管など腎臓以外の臓器においても存在することが明らかになり、各臓器への直接作用について注目されてきている。正常脳においては、海馬や大脳皮質などの一部にのみMRが発現しているが、脳梗塞などの虚血性脳疾患におけるその発現の変化や機能については現在のところ明らかにされていない。本研究では、マウス非致死性脳梗塞モデルを用いて脳梗塞域におけるMRの発現変化とそれを中心的に担う細胞について検討した。

8週齢雄性C57BL/6マウスを用い、20分間中大脳動脈を塞栓し、大脳基底核にのみ梗塞を認める非致死性脳梗塞モデルを作製し、免疫染色にて梗塞域でのMR発現の変化を経時的に観察した。非虚血時の基底核ではMRはほとんど発現していなかったが、梗塞後急性期（梗塞後2日目）に梗塞中心部においてMRの発現を認め、その発現は亜急性期（梗塞後7～14日目）にかけて著しく上昇した。その発現を主に担うのは、梗塞域に遊走してきたアストログリアであった。又、このMR発現亢進は、梗塞後慢性期（梗塞後28日目）には再び非虚血時と同等程度にまで消退した。

以上の結果を踏まえ、前述の脳梗塞モデルにおいて、梗塞作製直前より血圧に影響を与えない用量でMR拮抗薬であるスピロノラクトン（300μg/day）を浸透圧ポンプにより持続皮下投与し、梗塞域に一過性に発現亢進したMRの梗塞域における役割を検討した。対照群には溶媒（プロピレングリコール）を同様に投与し、比較検討した。スピロノラクトン群では、梗塞後7日目において、梗塞中心部における酸化ストレス産生とアポトーシスの有意な減少を認めた。アストログリアは、梗塞巣からの炎症性サイトカインにより活性化された後に様々な神経保護因子を分泌しうるため、定量的 RT-PCR を用いてスピロノラクトン投与による梗塞部での神経保護因子発現の変化を解析したところ、梗塞後２・7日目共に、血管新生かつ神経保護因子であるbasic fibroblast growth factor （bFGF）と血管新生因子であるvascular endothelial growth factor （VEGF）の発現がスピロノラクトン群で有意に亢進していた。梗塞中心部での免疫染色解析にても、梗塞後7日目において、bFGF、VEGFの発現が同様にスピロノラクトン群で有意に亢進し、その発現を主に担うのはアストログリアであった。梗塞後14日目において、梗塞域における毛細血管密度もスピロノラクトン群において有意に増加していた。また、梗塞後の新生ニューロンの補填のために、傍脳室領域から基底核梗塞部に遊走してくる神経芽細胞の数も梗塞後7日目においてスピロノラクトン群で有意に増加していた。これらの結果、スピロノラクトン群では梗塞後14日目において、梗塞範囲は約8.6%の有意な縮小を認めた。

本研究において、脳梗塞時には梗塞域においてMR発現が一過性に著明に上昇することが示され、その発現を中心的に担うのはアストログリアであった。また、脳梗塞後のMR抑制は、梗塞後の神経保護効果、血管再生効果につながることが示され、MR拮抗薬の脳梗塞治療薬としての可能性が示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

ミネラルコルチコイド受容体(MR)は、腎遠位尿細管・集合管だけでなく、心臓・血管・脳など腎臓以外の臓器においても存在するが、現在のところ、虚血性脳疾患におけるその発現の変化や機能については明らかにされていない。本研究で申請者は、脳梗塞モデルにおいて、梗塞部位におけるMR発現の変化とその意義について検討した。

10週齢のC57BL6/Jマウスを用いた20分間の中大脳動脈塞栓による脳梗塞モデルにおいて、免疫抗体染色で検出したMR発現は梗塞急性期から亜急性期にかけ亢進し、梗塞域に遊走したアストログリアがその発現を主に担うことを明らかにした。MR拮抗薬であるスピロノラクトン投与は、梗塞亜急性期において、梗塞中心部における酸化ストレス産生とアポトーシスを抑制し、更に、アストログリアにおいて、神経保護・血管新生因子であるbFGFと血管新生因子であるVEGFの発現を亢進させた。また、梗塞亜急性期には、スピロノラクトンは梗塞中心部における毛細血管密度を増加させた。同時に、スピロノラクトン投与により、梗塞域に集する神経芽細胞数の増加が認められた。これらの結果、スピロノラクトン投与により、梗塞後亜急性期における梗塞範囲の縮小が認められた。

以上の研究は、脳梗塞後の組織再生の理解に貢献し、MR拮抗薬の脳梗塞治療薬としての可能性を示唆するものである。

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2月9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