

関する傾向が見られた(統計学的には有意には至らなかった)。

4. メタボリック症候群という括りで本研究を見直してみるとどうか?

”答弁”: 本研究はメタボリック症候群の概念が登場する前から始めており、登録症例の腹囲を測定していない。このためメタボリック症候群としての解析はできない。

5. RLP-Cが高いと粥腫破裂例が多いということだが急性心筋梗塞75例中15例が高値ということであれば逆に粥腫破裂例においてRLP-C高値例は高率とは言えないのではないか?

”答弁”: これまでの研究では不安定狭心症または急性心筋梗塞例においては安定狭心症例と比べてRLP-C高値例が多いと報告されている。つまり75例中15例が高値であるという比率は安定狭心症例と比較して高くなると考えられる。

6. 冠攣縮例でRLP-C高値例が多いということだが、器質的狭窄の有無によっても血管tonusが変化するのではないか?

”答弁”: 本研究の冠攣縮に関する検討はすべて器質的有意狭窄病変がない症例のみを対象としているので、器質的病変例における冠攣縮の発生については不明である。今後検討する。

5. RLP-Cと凝固能との関連についてはどうか?

”答弁”: 本研究では直接的には検討していない。過去の論文ではPAI-1との相関関係があるとの報告や赤血球膜表面にRLP-Cが接合して血小板を凝集させるという論文が発表されているがいずれも基礎研究であり、臨床レベルでの報告は見あたらない。

本講演は急性心筋梗塞例における粥腫破綻の機序に関してRLP-Cの重要性を示したものである。血管内視鏡所見によって確認されたヒトにおける粥腫破綻とRLP-Cが相関することから局所における脂質コアの重要性のみならず、冠攣縮の関わりも示唆されており今後の粥腫破綻機序解明に大きな手がかりを与える研究である。また発表後の質疑応答においても循環器病学および血液生化学の一般的知識に基づいた適切な回答をしており演者は本学学位授与にふさわしい学識を備えていることを示した。

氏名	辻 潔
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	医第915号
学位授与の日付	平成19年3月22日
学位授与の要件	学位規程第4条第1項該当
学位論文題目	Tissue plasminogen activator promotes matrix metalloproteinase-9 upregulation after focal cerebral ischemia (脳虚血後再灌流におけるtPAによるMMP-9の誘導)
論文審査委員(主査)	教授 種子田 護
(副主査)	教授 古賀 義久
(副主査)	教授 佐賀 俊彦

論文内容の要旨

【目的】

脳梗塞急性期での tissue type plasminogen activator (tPA) による血栓溶解療法は有効な治療法であるが、出血性合併症のリスクが上昇すると報告されており、その発生メカニズムは明確にされていない。matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) は血管基底膜を構成する collagen type IVを分解するプロテアーゼであり、脳虚血後及び再灌流後の浮腫、出血に関与すると報告されている。本研究ではラット及びマウスの脳虚血モデルを用いて、虚血後再灌流において tPA 投与が MMP-9 にどのように影響するかを検討した。

【方法】

高血圧ラットの 3 時間脳虚血モデルで再灌流時に tPA を、また対照として生理食塩水を投与し、zymography を用いて虚血 3 時間・再灌流 21 時間後の MMP-9 活性を観察した。また TTC 染色を用いて虚血 3 時間・再灌流 21 時間後の梗塞巣を観察した。

マウスの 2 時間脳虚血モデルではワイルドタイプマウスで再灌流時に生理食塩水を投与した群、tPA ノックアウトマウスで再灌流時に生理食塩水を投与した群、tPA ノックアウトマウスで再灌流時に外因性 tPA を投与した群の 3 群に分け、虚血 2 時間・再灌流 22 時間後の MMP-9 活性及び脳浮腫の程度を観察した。また、マウスの脳虚血モデルで免疫組織化学染色を用いて MMP-9 の発現細胞を調べた。

【結果】

高血圧ラットで虚血 3 時間・再灌流 21 時間後の梗塞巣は両群で差はなかったが、MMP-9 活性は生理食塩水投与群に比べ、tPA 投与群で有意に上昇した。

ワイルドタイプマウスで再灌流時に生理食塩水を投与した群に比べ、tPA ノックアウトマウスで再灌流時に生理食塩水を投与した群では虚血 2 時間・再灌流 22 時間後の MMP-9 活性及び脳浮腫の程度は有意に減少した。また tPA ノックアウトマウスで再灌流時に生理食塩水を投与した群に比べ、tPA ノックアウトマウスで再灌流時に外因性 tPA を投与した群では有意に MMP-9 活性及び脳浮腫の程度は上昇した。免疫組織化学染色では MMP-9 の発現部位は主に血管内皮細胞であることが確認された。

【考察】

本研究により虚血後再灌流において MMP-9 の発現が上昇することが明らかとなった。プロテアーゼは細胞外腔で蛋白分解作用を生じ様々な病態に関与しうるが、一種類のプロテアーゼが活性化すると他の種類のプロテアーゼも次々と活性化し、プロテアーゼカスケードともいべき病態が脳虚血後再灌流において発生する可能性がある。プロテアーゼでもある tPA は MMP-9 の発現をさらに上昇させ、虚血後再灌流の脳損傷に強く関与していると考えられた。

【結論】

本研究により tPA は血栓溶解薬として有効である反面、MMP-9 の発現を増加させ脳損傷をさらに悪化させる原因ともなりうる実証された。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2005 年 9 月 日 公 表	出版物名 Stroke 36
	公 表 内 容	
	全 文	2005 年 9 月 日 発 行

脳梗塞発症3時間以内でのtissue plasminogen activator (tPA)静脈内投与による血栓溶解療法は治療効果も確認され、脳梗塞での重要な治療法となりつつある。しかし、安全に効果を得るためには、tPAの使用が超急性期に限られ、一方では出血性合併症の危険性がtPA投与によって上昇すると報告されている。出血性合併症のメカニズムの解明はtPA治療の安全性確保、合併症の予防につながるものである。そこで、本研究では脳虚血後及び再灌流後に発現され、血管基底膜のcollagen type IVを分解するmatrix metalloproteinase-9 (MMP-9)に着目して、tPA投与がMMP-9にどのように影響するかが検討された。

まず、高血圧ラットの3時間脳虚血モデルで再灌流時にtPAを、また対照として生理食塩水を投与し、zymographyを用いて虚血3時間・再灌流21時間後のMMP-9活性を観察した。またTTC染色を用いて虚血3時間・再灌流21時間後の梗塞巣を観察した。その結果、虚血3時間・再灌流21時間後の梗塞巣は両群で有意な差はなかったが、MMP-9活性は生理食塩水投与群に比べ、tPA投与群で有意に上昇した。これは虚血後再灌流においてtPA投与が何らかの形でMMP-9の発現を増加させたものと考えられるが、プラスミンインヒビターであるトラネキサム酸をtPAと併用しても、MMP-9の発現は生理食塩水投与群に比べ有意に上昇していたため、プラスミンを介した作用ではないことを示唆するものであった。

次に、マウスの2時間脳虚血モデルを作成し、ワイルドタイプマウスで再灌流時に生理食塩水を投与した群、tPAノックアウトマウスで再灌流時に生理食塩水を投与した群、

tPAノックアウトマウスで再灌流時に外因性tPAを投与した群の3群に分け、虚血2時間・再灌流22時間後のMMP-9活性及び脳浮腫の程度を観察した。また、マウスの脳虚血モデルで免疫組織化学染色を用いてMMP-9の発現細胞が調べられた。その結果、ワイルドタイプマウスで再灌流時に生理食塩水を投与した群に比べ、tPAノックアウトマウスで再灌流時に生理食塩水を投与した群では虚血2時間・再灌流22時間後のMMP-9活性及び脳浮腫の程度は有意に減少した。またtPAノックアウトマウスで再灌流時に生理食塩水を投与した群に比べ、tPAノックアウトマウスで再灌流時に外因性tPAを投与した群ではMMP-9活性及び脳浮腫の程度は有意に増加した。これらのことは虚血後再灌流において、内因性tPA、外因性tPAともにMMP-9の発現を増加させ、脳浮腫を増悪させることを示しているものであった。免疫組織化学染色ではMMP-9の発現部位は主に血管内皮細胞であることが実証された。

tPA投与による出血性合併症の原因として血栓溶解に伴った再灌流による炎症細胞浸潤の増強やフリーラジカル反応の増加などが考えられている。また、プロテアーゼでもあるtPA自身にもグルタミン酸による神経障害を増悪させる神経毒性があるとされる。プロテアーゼは細胞外腔で蛋白分解作用を生じ様々な病態に関与しうるが、一種類のプロテアーゼが活性化すると他の種類のプロテアーゼも次々と活性化し、プロテアーゼカスケードともいべき病態が脳虚血後再灌流において発生するものと推測される。

本研究は血管基底膜のcollagen type IVを分解するMMP-9に着目し、プロテアーゼでもあるtPA投与がMMP-9の発現量を上昇させ、虚血後再灌流後の脳損傷に積極的に関与し得るという客観的根拠を新たに示したものである。これらの結果は今後、tPA治療の安全性確保、合併症の予防のために有意義な知見であり、臨床的な意義が大きい。

よって、審査委員は、規定の各審査試験ならびに博士学位論文公聴会(平成19年2月6日)を行って、慎重に審査した結果、本論文を博士(医学)学位論文に十分値すると認めた。

氏名	お  が  ゆき  お 大  賀  征  夫
学位の種類	博  士 (医学)
学位記番号	医  第  9  1  6  号
学位授与の日付	平  成  1  9  年  3  月  2  2  日
学位授与の要件	学位規程第4条第1項該当
学位論文題目	強迫性障害に対する短期認知行動療法の試み

論文審査委員 (主査)	教  授	人  見  一  彦
(副主査)	教  授	稲  瀬  正  彦
(副主査)	教  授	楠  進