

見が見出されたことより、学位論文に値すると評価された。

氏 名	いし だ ひろ ゆき 石 田 浩 之
学位の種類	博 士 (医学)
学位記番号	医 第 8 8 6 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Expression of glucose transporter-1 and aquaporin-4 in the cerebral cortex of stroke-prone spontaneously hypertensive rats-in relation to blood-brain barrier function (脳卒中易発症性ラットの大脳皮質におけるGlucose transporter-1, Aquaporin-4の発現と血液脳関門の機能異常の関連)
論文審査委員 (主 査)	教 授 伊 藤 浩 行
(副主査)	教 授 東 野 英 明
(副主査)	教 授 松 尾 理

論文内容の要旨

【目的】

血液・脳関門 (BBB) の破綻による脳浮腫の発生は脳血管障害のみならず脳腫瘍や脳外傷においても子後を行く重要な病変であり、その病態や発生機序を解明することはきわめて重要な課題であるが、人体において研究することはほとんど不可能である。脳卒中易発症性 SHR (SHRSP) はほぼ全例が重症の高血圧とともに脳浮腫・脳軟化を自然に発症するが、脳微小血管障害の発生機序に関しては未だ不明の点が多く残されている。本研究は、重症の高血圧を基盤とした BBB の破綻の機序を明らかにするために、SHRSP を用いて BBB の機能に関連する分子の発現を分子生物学的に検討したものである。

【方法】

BBB に機能に関して内皮細胞内における Glucose transporter-1 (GLUT-1) や微小血管周囲の astrocyte に存在する water channel protein である aquaporin-4 (AQP4) が重要な役割を演じていることが示唆されている。そこで、高血圧発症前の生後 6 週と、脳卒中発症前の生後 20 週における両分子の発現を正常血圧の Wistar-Kyoto ラット (WKY) との比較において検索した。まず、両分子の大脳皮質における局在を免疫電顕により検索した。次いで蛋白レベルでの発現を western blot 法で検索するとともに、生後 20 週における mRNA レベルでの発現を RT-PCR 法で検索した。

【結果】

生後 20 週 of SHRSP では血圧は有意に高く、脳重量は重く、組織学的に浮腫性病変が認められた。免疫電顕では GLUT-1 は内皮細胞の細胞質にのみ、AQP4 は astrocyte の足突起にのみ認められ、両者は異なった局在を示した。蛋白レベルでの発現は 6 週では両者に差は認められなかったが、20 週 of SHRSP では GLUT-1 の低下と AQP4 の上昇が認められた。そこで 20 週における両分子の発現を mRNA レベルで比較したところ、SHRSP は WKY に比べ両分子ともに低値であった。

【考察】

以上のように、脳内微小血管における BBB の機能には内皮細胞での GLUT-1 と astrocyte の AQP4 が重要な役割を演じていることが示された。SHRSP では GLUT-1 の downregulation が認められたが、原因として透過性の亢進に対する negative feedback や SHRSP における insulin resistance が考えられる。一方、AQP4 の発現は蛋白レベルでは亢進が見られたが、mRNA レベルでは低下が認められた。その原因として AQP4 の細胞内における pooling や negative feedback 機構が推測される。

【結論】

本論文は SHRSP における BBB の機能異常に関する初めての分子生物学的研究であり、形態と機能の両面から解析したもので、人為的且つ急性の虚血モデルとは異なる新しい知見を示している。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2006年1月日 公表予定	出版物名 American Journal of Hypertension
	公 表 内 容	
	全 文	2006年1月日 発行予定

論文審査結果の要旨

脳出血や脳軟化症などいわゆる脳血管障害は最小動脈における血管壊死とそれによる微小動脈瘤が原因とされており、同様の病変は脳卒中モデル動物である脳卒中易発症性 SHR (SHRSP) でも認められている。しかし、このような病変の発症に先んじて認められる微小血管障害による脳浮腫は病変発生に重要な意義を有していると考えられるが、その発症機序は十分明らかにされているとは言いがたい。そこで学位申請者は脳浮腫の原因である血液脳関門の機能異常に焦点を当て、SHRSP を用いてその発生機序の分子生物学的検索を企図した。高血圧発症前の生後 6 週齢の SHRSP と発症後の生後 20 週齢の SHRSP を用い、血液脳関門の機能的指標として Glucose transporter-1 (GLUT-1) と Aquaporine 4 (AQP4) の大脳皮質微小血管における局在とその発現を正常血圧の Wistar-Kyoto ラット (WKY) と比較検討した。組織における局在は免疫電顕で、またこれらの分子の発現は western blotting および RT-PCR で検索した。その結果、GLUT-1 は血管内皮細胞の細胞質にのみ限局して見られ、AQP4 は血管周囲でグリア細胞に相当する部位にのみ認められた。従って GLUT-1 の発現は内皮細胞の機能を、また AQP4 の発現はグリア細胞の機能を正確に反映しており、これらの細胞が血液脳関門としての役割を果たしていることが確認された。そこでこれらの分子の発現を高血圧発症前後で正常血圧ラットとの比較において検索した。GLUT-1 の発現は高血圧発症前では両者の間に差は認められなかったが、重症の高血圧 (平均 255mmHg) を示す 20 週齢の SHRSP では蛋白レベルでも mRNA レベルでも WKY に比べ有意に低値であり、以前の免疫組織学

的検索結果と一致した。一方 AQ4 の発現は高血圧発症前では GLUT-1 と同様に両者の間に差は認められなかった。しかし 20 週齢では蛋白レベルでは SHRSP が有意に高値を示したが、mRNA レベルでは逆に低値を示した。この原因に関しては不明であるが、高血圧増悪中の発現亢進による negative feedback 機構や insulin resistance の関与が考えられる。本研究において学位申請者は SHRSP における脳浮腫の成因は遺伝素因によるものではなく高血圧状態における血液脳関門の機能異常に起因するものであることを始めて明らかにした。本研究結果は脳血管障害の予防に血圧コントロールが極めて重要であることを明確に示すとともに、これらの分子の発現を制御することにより、脳微小血管障害による脳浮腫の予防や治療が可能であることを示唆している。本研究は微小血管障害の発生機序を明らかにするのみならず、将来の予防や治療法の開発に道を開くものであり、学問的価値の高いものである。学位論文として十分値するものと評価される。

氏 名	梅 ^{うめ} 本 ^{もと} 雅 ^{まさ} 彦 ^{ひこ}
学位の種類	博 士 (医学)
学位記番号	医 第 8 8 7 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Preoperative Diagnosis of Ovarian Tumors, Focusing on the Solid Area Based on Diagnostic Imaging (画像診断から見た卵巣腫瘍の術前診断に関する 研究－腫瘍内充実性部分に着目して－)
論文審査委員 (主 査)	教授 星 合 昊
(副主査)	教授 奥 野 清 隆
(副主査)	教授 西 村 恭 昌