［課程-2］

審査の結果の要旨

氏名　　苗 村　和 明

本研究は、脳血管に原因不明の拡張・延長・蛇行を来し、未だ有効な治療法が確立されていない dolichoectasia の病態生理を解明すべく、その基盤となる手術手技および動物モデルを開発し、その動物モデルを解析することで実際の病態との共通点・相違点を探ると共に、本モデルに対するくも膜移植による治療効果や本モデルの更なる改良を検討し、下記の結果を得ている。

１．　マウス脳底動脈に対し灌流固定を行なった群（PF 群）と浸漬固定を行なった群（IF 群）とで血管径や血管形態を比較したところ、PF 群では IF 群と比して血管径拡張および中膜平滑筋層菲薄化が顕著であり、内弾性板伸長も有意に認められたことから、固定方法によって観察時の血管径並びに血管形態に違いが生じ得ることが示された。

２．　これまでに報告されている齧歯類における全脳虚血モデルの手術手技を応用し、頭蓋頚椎移行部の広範な骨削除技術を開発することで、マウス脳底動脈を長きに渡り安全かつ確実に露出する手術手技を確立した。これにより、今後はこれまで困難と考えられていた同血管や同部位に対する様々な処置・介入が可能となり、広く応用されることが期待される。

３．　マウス脳底動脈を 0.5 M の塩化カルシウムで 15 分間損傷することにより、同血管に有意な拡張現象を引き起こし得ることが示された。また、中膜平滑筋層の菲薄化も顕著であり、dolichoectasia の病理学的特徴と合致する所見であった。ただ、内弾性板には変形こそ認めたものの、明らかな断裂・断片化は認められず、また内皮細胞にもはっきりとした傷害を認めなかった。以上より、本モデルは外側から傷害が強く誘発されることが示された。

４．　本モデルのより早期における観察により、中膜平滑筋層の菲薄化は術

後 2 時間の時点で既に顕著に認められた。しかしながら、やはり内皮細胞には明らかな損傷を認めなかった。また、損傷血管への炎症細胞浸潤も認められ、好中球→マイクログリアの順に浸潤していることが示された。塩化カルシウムで損傷した側の中膜平滑筋層外層～外側を中心に、一部非損傷側でも MMP9 の分泌亢進が認められ、損傷を受けた中膜平滑筋細胞並びにマイクログリアから分泌されている可能性が示唆された。

5．　本モデルでは、術後の比較的早い段階から塩化カルシウム損傷を受けた側での TUNEL 反応が顕著であったのに対し、PI 標識による染色は軽微に留まったことから、アポトーシスが主体の病態であることが示された。また、ネクロプトーシスのマーカーである RIP3 が中膜平滑筋層外層～外側で高発現している所見も認められ、本モデルにおける細胞死の大半はプログラムされた能動的なものであることが示された。更に、TUNEL と RIP3 とが非常によく共染して来ることより、MMP9 の発現部位とも合わせ、中膜平滑筋層外層～外側が本モデルの病態にとって非常に重要な部位である可能性が示唆された。

6．　本モデルに対してくも膜移植を行ったところ、術後 28 日の時点で移植くも膜が損傷血管を取り囲んでいる所見が認められた。引き続き、本モデルに対するくも膜移植の効果を調べたところ、くも膜移植には血管径の拡張や中膜平滑筋層の菲薄化を抑制する効果があることが示された。しかしながら、くも膜細胞の中膜平滑筋細胞への直接分化の証拠は見付からず、現時点ではパラクリンイフェクト等による間接的な効果である可能性が考えられている。

7．　本モデルにエラスターゼを併用した上で左総頚動脈結紮・閉塞を追加したところ、血管拡張や中膜平滑筋層菲薄化の程度がより増悪すると共に、元のモデルでは認められなかった内弾性板の断裂・断片化が認められるようになった。これは dolichoectasia における重要な病理学的特徴の 1 つである為、より原疾患に合ったモデルへと改良することに成功したと言える。

以上、本論文はマウス脳底動脈を広範に露出するという技術的障壁をクリアした上で、塩化カルシウム損傷によりマウス脳底動脈に拡張性変化を来すモデルを作成することに成功し、実際に本モデルに対して各種解析を行うこと

で dolichoectasia といくつかの共通点が認められることを明らかにした。更に、くも膜移植により本モデルの病態形成が抑制されることを明らかとし、今後の治療法開発へと繋がることが期待されると共に、より dolichoectasia の病態に近いモデルへの改良も試みられており、dolichoectasia の病態解明により一層貢献するモデルの確立が期待される。本研究はこれまで有用な動物モデルが存在せず、結果的にその病態の大部分が未解明のままであり、この故に有効な治療法も存在しない dolichoectasia の基礎研究を推し進める上で重要な貢献を為すと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。