

## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 平田 健司

### 学位論文題名

虚血性脳血管障害の診断および治療を目指した病態解析

虚血性脳血管障害は、脳卒中を発症すると致命率が高いだけでなく救命できた場合でも重度の神経後遺症が生活の質を大きく低下させる疾患である。虚血性脳血管障害における診断、治療を目指した病態評価を目的として、ポジトロン断層撮影 (PET) の臨床データ解析およびモデル動物による遺伝子・蛋白発現に関する研究を行った。

#### 1. 診断を目指した PET の臨床データ解析に関する研究

【背景と目的】PET で得られる脳血流 (CBF) の情報は脳血管障害の治療方針決定に重要である。PET による CBF 測定は、単一組織コンパートメント・モデル (STCM) 上で水の脳血流分配係数 (以下、分配係数) を一定値と仮定して行われるが、虚血脳において分配係数が真に一定であるかは未だ示されていない。実際と異なる分配係数の使用は CBF 誤推定につながるため、より正確な診断法の確立を目指して虚血脳の分配係数測定を試みた。また分配係数を一定値としたときの CBF 誤差を検討した。

【対象と方法】22 人の片側性の虚血性脳血管障害患者に対して  $^{15}\text{O}$  標識ガス PET を用いた CBF 検査を行った。 $\text{C}^{15}\text{O}_2$  を 1.5GBq/分の速度で 90 秒間経鼻投与しながら 6 分間の PET 撮影と 16 点動脈採血を同時に行った。STCM と非線形最小二乗法から速度定数  $K_1$  と  $k_2$  を独立に推定し、梗塞部、虚血部 (非梗塞部) での分配係数 ( $=K_1/k_2$ ) の変化を評価する検討 A と、分配係数を健常者 7 人から得た値で固定した上で CBF を推定し分配係数可変で推定した CBF との誤差を評価する検討 B を行った。

【結果】検討 A では、分配係数 (ml/g) は梗塞部  $0.55 \pm 0.07$ 、虚血部  $0.67 \pm 0.06$ 、対側皮質  $0.68 \pm 0.05$  と梗塞部のみが有意 ( $P < 0.001$ ) に低値であった。検討 B では、分配係数可変で求めた CBF (ml/100g/min) は、梗塞部  $21.3 \pm 7.0$ 、虚血部  $33.2 \pm 8.0$ 、対側皮質  $39.5 \pm 8.1$  であったが、分配係数を健常者から得られた  $0.70\text{ml/g}$  に固定すると CBF は梗塞部  $18.7 \pm 7.5$ 、虚血部  $33.0 \pm 9.2$ 、対側皮質  $39.5 \pm 9.7$  となり、分配係数固定により梗塞部では 12% の過小評価 ( $P < 0.001$ ) となったが虚血部と対側皮質では有意差がなかった。2 つの CBF は強く相関した ( $r = 0.95$ 、 $P < 0.001$ )。

【考察】分配係数は平衡状態に達したときの脳組織と血液の  $\text{H}_2^{15}\text{O}$  濃度比であり、梗塞部では細胞成分が減少するために分配係数が低下していたと推察される。従って分配係数を固定した場合に梗塞部の CBF を過小評価すると考えられたが、検討 B の結果はこの理論に合致した。しかし梗塞部の CBF は著明低値であるためその誤差も小さく、全体の相関に影響を与えることはなかった。

#### 2. 治療を目指した遺伝子・蛋白発現に関する研究

【背景と目的】脳卒中後遺症を持つ患者に広く行われているリハビリテーションが神経機能を回復させるメカニズムには不明な点が多い。より効果の高いリハビリ医療を目指して、

リハビリの動物モデルとして確立している充実環境飼育と分子生物学的手法を用いて回復メカニズムを解明しようと試みた。過去に4週間の充実環境飼育での brain derived neurotrophic factor (BDNF) 遺伝子・蛋白の発現低下が報告されている。より深い病態理解のため2週間の充実環境飼育での BDNF 測定を行った。

【対象と方法】60分間の中大脳動脈閉塞術にて脳梗塞を作成したSDラットをランダムに充実環境(E群)もしくは標準環境(S群)で飼育した。E群は多数の遊具を配置した大きなケージで群飼育し、S群は遊具を配置しない小さなケージで単独飼育した。各環境下で2週間飼育した後に脳組織を摘出し、リアルタイム RT-PCRにてBDNF mRNAを、ウェスタン・ブロッティング(WB)にて proBDNF 蛋白、mature BDNF 蛋白を、免疫染色によって MAP-2、Synaptophysin、mature BDNF 蛋白をそれぞれ測定し、2群間で比較検討した。神経機能評価として neurological severity scores(NSS)を2群に分ける直前(day0)と2週間後(day14)に記録した。

【結果】 $NSS_{day0}$  は  $8.00 \pm 1.02$  vs  $7.55 \pm 0.74$  (E群 vs S群、以下同じ)と有意差がなかったが、 $NSS_{day14}$  は  $4.92 \pm 1.32$  vs  $5.73 \pm 1.03$  ( $P < 0.05$ )とE群で良好な神経機能回復を認めた。一方、MAP-2染色で求めた梗塞面積対側比(%)は  $56.82 \pm 7.31$  vs  $55.44 \pm 11.50$  (NS)とE群に梗塞面積減少はなかった。BDNF mRNAは梗塞周辺皮質で  $0.75 \pm 0.21$  vs  $1.00 \pm 0.35$  (NS)、対側皮質で  $1.45 \pm 0.63$  vs  $1.54 \pm 0.72$  (NS)であった。WBによる proBDNF は、梗塞周辺皮質で  $0.95 \pm 0.35$  vs  $1.00 \pm 0.42$  (NS)、対側皮質で  $0.78 \pm 0.29$  vs  $1.00 \pm 0.42$  (NS)、mature BDNF は梗塞周辺皮質で  $0.59 \pm 0.55$  vs  $1.00 \pm 0.84$  (NS)、対側皮質で  $0.97 \pm 0.23$  vs  $1.00 \pm 0.43$  (NS)であった。mature BDNF 染色面積(%)は梗塞周辺皮質で  $2.54 \pm 1.06$  vs  $3.02 \pm 1.00$  (NS)、対側皮質で  $3.59 \pm 0.83$  vs  $3.65 \pm 0.86$  (NS)であった。Synaptophysin 染色面積(%)は梗塞周辺皮質で  $2.57 \pm 0.28$  vs  $2.07 \pm 0.23$  ( $P < 0.001$ )とE群で有意に大きかった。

【考察】E群の神経機能は有意に改善しシナプス密度の増加も認められたが、梗塞面積の減少は認められなかった。神経機能回復にも関わらず、神経栄養因子であるBDNFがmRNAレベル・mature BDNF 蛋白レベルで増加しなかったことは、過去の報告に一致する。また、アポトーシス誘導因子 proBDNF の減少が神経機能にプラスに働く可能性を考えて proBDNF を測定したが、有意差は認められず proBDNF が関与しているとは言えなかった。

【結論】第1の研究では、臨床上最も重要な情報である虚血部の血流を正確に測定できるという意味で分配係数を固定する方法の正当性を示した。今回の研究成果により、分配係数固定によって導かれた過去の多くの臨床エビデンスがサポートされ、そして今後行われるPETでのCBF測定の正確性が保証される。第2の研究では、充実環境による神経機能回復がBDNF増加あるいは proBDNF 低下によるものではないことを示した。神経機能回復の核心になっている遺伝子・蛋白を同定することはできなかったが、今後は他の神経栄養因子や炎症関連因子の検討、遺伝子・蛋白の網羅的解析が有用な情報を与えられようと考えられる。