

氏 名	しば た ます なり 柴 田 益 成
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2876 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科脳統御医科学系専攻
学位論文題目	White matter lesions and glial activation in a novel mouse model of chronic cerebral hypoperfusion. (新規開発した慢性脳低灌流モデルマウスにおける大脳白質病変とグリアの活性化)
論文調査委員	(主 査) 教授 大森 治 紀      教授 橋本 信 夫      教授 芹川 忠 夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

〈緒言〉 高齢者および虚血性脳血管障害患者に認められる白質病変は、皮質下血管性痴呆の中核病変とされ、その成因に慢性脳低灌流が関与する可能性が指摘されている。慢性脳低灌流の実験モデルとしてラットや砂ネズミのモデルがあり、ヒトの白質病変類似の病変が形成されることから虚血性白質病変の病態、治療研究に広く用いられている。しかし、これら従来のモデル動物は必発する視神経病変のため行動評価が困難であり、さらに遺伝子改変が困難であることが問題であった。本研究では、微小金属コイルで両側総頸動脈を狭窄することによりマウスでは初めての新しい慢性脳低灌流モデルの作成に成功し、遅発性の白質病変とグリア活性化が高い再現性をもって観察されたので報告する。

〈方法〉 10週齢、体重24～29gの雄性 C57B/6マウスの両側総頸動脈に内径を異にする4種の微小金属コイル(0.16～0.22mm)を外側より装着し種々の程度の両側総頸動脈狭窄(BCAS)を作成した。術後2時間、1, 3, 7, 14, 30日目の前脳皮質血流(CBF)をレーザー Doppler 血流計で測定し、30日目に灌流固定、脳を摘出し Kluver-Barrera 染色及び HE 染色にて組織学的に評価した。内径0.18, 0.20mmのコイルを用いた BCAS 群については術後3, 7, 14, 30日目に脳を摘出し活性化ミクログリアとアストログリアに対するマーカーで免疫組織学的に評価した。

〈結果〉 術後2時間の CBF は、内径0.22mmのコイルを用いた BCAS 群では偽手術群に比し低下は認めず、内径0.20, 0.18, 0.16mm 群で各々前値の77.3±13.4%, 67.3±18.5%, 51.4±11.5%と有意に低下した。術後1日目より CBF は回復傾向を示したが、その低下は術後14日目まで有意であった ( $p < 0.05$ )。内径0.18mm, 0.20mmのコイルによる BCAS 群では術後14日目以後、大脳白質の粗鬆化が出現し30日目にかけて増強した。白質病変の重症度は術後の CBF と負の相関を示し ( $p < 0.001$ )、脳室に接する脳梁に顕著で前交連や視神経には軽度であった。一方、内径0.16mmのコイルを用いた BCAS 群では、5例中4例と高率に皮質の小梗塞や海馬の錐体細胞脱落などの灰白質病変が認められた。内径0.18, 0.20mmの BCAS 群では、術後3日目以降活性化ミクログリアとアストログリアの増生が大脳白質に認められた。

〈考察〉 内径0.20または0.18mmのコイルを C57B/6マウスの両側総頸動脈の外側に装着することにより、中等度の慢性脳低灌流と灰白質病変を伴わない遅発性の白質病変が惹起され、慢性脳低灌流状態がマウスで再現性良く作成された。従来の動物モデルに比し、視神経傷害、灰白質傷害を伴わないことが特徴で、これは総頸動脈を介した順行性の血流がある程度保たれること、CBF 低下が比較的軽度であることが一因と考えられるが、正確な行動評価を可能とする利点と考えられる。虚血性白質病変では BBB の破綻、マトリックスメタロプロテアーゼ、グリアの活性化、アポトーシス等の関与が示唆されているが詳細は不明で、有効な治療法は開発されていない。現在、遺伝子改変動物を用い、単一の遺伝子産物の生体内における機能を調べるのが広く行なわれているが、本モデルはトランスジェニックマウスやノックアウトマウスに適用することが容易であり、虚血性白質傷害研究の有用なツールとなると考えられる。

〈結論〉 慢性脳低灌流モデルマウスでは視神経路や灰白質病変を伴わずに粗鬆化とグリア増生からなる白質病変が形成される。このモデルマウスは虚血性白質傷害の病態解明と治療法の研究に有用と考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本研究では新規開発した慢性脳低灌流モデルマウスにおいて、白質病変とグリアの活性化がみられることを明らかにした。10週齢の雄性 C57BL/6 マウスの両側総頸動脈に内径を異にする4種の微小金属コイルを外側より装着し種々の程度の両側総頸動脈狭窄 (BCAS) を作成した。術後の前脳皮質血流 (CBF) をレーザードップラー血流計で経時的に測定し、30日目に脳を摘出し組織学的に評価した。内径0.20, 0.18mmのコイルを用いた BCAS 群については術後3, 7, 14, 30日に白質病変の経時変化を組織学的に評価した。術後2時間の CBF は、内径0.20, 0.18, 0.16mm 群で各々前値の $77 \pm 13$ ,  $67 \pm 19$ ,  $51 \pm 11\%$ と低下し術後14日目までその低下は有意であった。内径0.20, 0.18mm は14日目以降白質の粗鬆化が増強した。粗鬆化の出現に先立ち7日目より活性化ミクログリアとアストログリアの増生が白質に認められた。一方、内径0.16mm 群では高率に灰白質病変を合併した。本モデルはトランスジェニックマウスやノックアウトマウスに適用することが容易であり、虚血性白質傷害研究の有用なツールとなると考えられた。

以上の研究は、新規開発した慢性脳低灌流モデルマウス、では粗鬆化とグリア増生からなる白質病変が再現性よく形成されることを示し、虚血性白質傷害の病態解明に寄与するところが大きい。

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17年2月14日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問をうけ、合格と認められたものである。