

氏 名（本籍） 富 岡 ち あ き

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 博 第 1 1 1 3 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 4 年 3 月 27 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 攻 東 北 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科
（ 博 士 課 程 ） 内 科 学 系 専 攻

学 位 論 文 題 目 Rat 脳 虚 血 後 変 化 に 関 す る 免 疫 組 織 化 学 ・ 生 化
学 的 変 化

（ 主 査 ）

論 文 審 査 委 員 教 授 小 暮 久 也 教 授 林 典 夫

教 授 吉 本 高 志

論文内容要旨

海馬 CA-1 領域の錐体細胞は、虚血負荷後 2 - 4 日に死に至ることが報告され、この現象は遅発性神経細胞死と呼ばれている。この機構の解明には、虚血負荷後死に至る部位と死に至らない部位を比較し、その性状の差異を判別することが有効と考えられる。砂ネズミを用いた一過性脳虚血モデルでは、脳虚血後、細胞骨格蛋白の免疫組織化学活性が CA-1 の錐体細胞の破壊に先立ち減少するという報告がある。また、砂ネズミで一次元電気泳動を手法に用いて、細胞骨格蛋白のバンドの濃度が CA-1 の錐体細胞の破壊の時期に先立ち減少するのが報告されている。錐体細胞の破壊の時期に先立ち樹状突起の破壊が起こるとすると、シナプスの分布密度の高い樹状突起において経シナプ的に発生する障害の機構を考えるのが自然で、これは遅発性細胞障害の機構を考える上で興味深い。また脳虚血はストレス蛋白の産生をもたらす。本研究では、選択的脆弱細胞群とその他の細胞群との性状の比較、特に病変部位が海馬の CA-1 領域シナプス後組織に局限するかどうか、および各病変をきたす時期の判定を目的とした。まずストレス蛋白の発現と分布を血流再開後 6 時間、9 時間、1 日、2 日、3 日、7 日後に免疫組織化学、ウエスタンブロットで調べた。ウエスタンブロットではストレス蛋白の発現は血流再開後 9 時間、1 日、2 日めに認められた。ストレス蛋白の分布は、同時期に海馬の CA-1/CA-3 の錐体細胞、大脳皮質の 2 - 4 層、視床、アミグダラに認められた。ストレス蛋白は死んでゆく細胞にも認められ、ストレス蛋白の分布と選択的脆弱細胞の脆弱性の順位と比較すると、その関連は認められなかった。ストレス蛋白は細胞死を救いうる細胞保護蛋白とはなりえないと考えられた。次に micro-tubulus-associated protein (MAP2) 等細胞骨格蛋白の破壊の時期を調べることで海馬 CA-1 領域の錐体細胞の樹状突起をはじめとする後シナプスの破壊の時期を調べた。その結果、海馬 CA-1 領域の錐体細胞の樹状突起などシナプス後組織の破壊の時期は一過性脳虚血後 2 - 4 日後であり、錐体細胞の破壊に先んじないことが判明した。これらの細胞骨格蛋白の破壊の時期は電気泳動をもちいた各蛋白のバンドの濃度の検討でもうらづけられた。さらにこれら病変部位が海馬のシナプス後組織に局限するかどうかを一過性脳虚血侵襲後、シナプス前線維の退行性変性の有無によって検討した。血流再開後、1 日、3 日、30 日後抗チロシン水酸化酵素抗体を用いて前シナプス性ノルアドレナリン線維を調べた結果、一過性脳虚血の病変部位は血流再開後 30 日後には、シナプス前組織にも破壊が認められた。一過性脳虚血侵襲後の選択的神経細胞死の主病変は従来後シナプス性であるとされてきたがシナプス前組織の破壊により、必ずしもそういいきれないことが判明した。これらの破壊の時期については、海馬 CA-1 の錐体細胞の樹状突起については、選択的神経細胞死の時期と同時期と考えられた。シナプス前組織のそれは、緩徐進行形に進むことが

判明した。この報告と既報の砂ネズミの報告との差異は種差もしくは、虚血負荷中の血流量の差異に基づくかと考えられた。

審査結果の要旨

一過性脳虚血後の病変部位が、海馬の CA-1 領域のシナプス後組織に限局するかどうかについて、ラットを用い、主として蛋白の変化を中心にして検討した。

その結果まず第一に、脳虚血は脳組織にストレス蛋白の産生をもたらすことが明らかになった。本研究ではこのストレス蛋白が損傷の防御に関するかどうかを検討した。その結果、今回検討したストレス蛋白は細胞死をすくい上げる saver protein とはならない場合もあることがわかった。また、このストレス蛋白は細胞障害のマーカーとなりうるものであるが、その分布は遅発性神経細胞死のおこる海馬 CA-1 領域の錐体細胞に限局せず広範に及んでいた。

次に細胞骨格蛋白の破壊の時期を調べたところ、海馬 CA-1 領域の錐体細胞の樹状突起をはじめとする後シナプスの破壊の時期は一過性脳虚血後 2 - 4 日後であり、CA-1 錐体細胞の破壊と同時に変化が進行することが判明した。

最後に、これらの病変部位が海馬のシナプス後組織に限局するかどうかをシナプス前線維の退行性変性の有無によって検討した。今回用いたモデルにおいては血流再開後 30 日後に、シナプス前組織にも破壊が認められた。すなわち一過性脳虚血侵襲後の選択的神経細胞死の主病変は、従来後シナプスであるとされてきたが、今回、慢性期にはシナプス前組織にも変化が見られたことから、モデルによってはかならずしも破壊がシナプス後部に限局するとは言い切れないことがわかった。

本研究はラットの一過性脳虚血モデルを用いて、その病変部位が海馬の CA-1 領域のシナプス後組織に限局するわけではない事を示し、人でも臨床的に症状を伴わない小さい脳梗塞巣を引き起こした障害が、時間の経過と共により広範な部位にも障害をもたらす可能性を示唆した。従ってこの研究は、脳梗塞発症後の薬物投与の期間や目的、更には薬効の性質等を決定する上で重要な実験的基礎的事項を提示しているものであり、充分学位に値すると判断した。