

[別紙2]

## 審査の結果の要旨

氏名 原 貴行

本研究は近年ヒトの脳梗塞に対する治療として血栓溶解療法が確立されてきていること、および基礎実験による脳虚血・再灌流のモデルと実際のヒトの脳梗塞および血栓溶解療法による再灌流とはかなり異なっていることから、マウスにおいてヒトの脳虚血・再灌流により近いモデルを確立し、虚血・再灌流における血流・代謝状態の変化や代表的な遺伝子発現を明らかにすることを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウスの内頸動脈に他家血を用いて作成した血栓を注入することにより脳塞栓症を作成し、再灌流群では注入後1時間後に組み替え組織プラスミノゲンアクチベータ(rt-PA)を投与して血栓溶解を行った。それにより rt-PA 非投与群では再灌流が起こらず、rt-PA 投与群で起こることが脳血流計によってそれぞれ 89%と 83%の確立で確認され、新しく作成したこのモデルの再現性が示された。
2. 虚血作成後1時間には脳血流量(CBF)は中大脳動脈領域において対側の 20%以下まで低下し、それに伴い蛋白合成能(CPS)、エネルギー代謝(ATP)とも虚血側の MCA 領域で低下しているが確認された。ただし蛋白合成能低下の範囲はエネルギー代謝のそれに対し 10%程度大きく、いわゆる metabolic penumbra が存在していた。この部分は rt-PA による再灌流がない場合(非治療群)は時間経過とともに縮小し、24 時間後にはほぼ消失した。この代謝パラメータの変化はいままで広く用いられてきた塞栓糸を用いた脳虚血モデルによる結果と比較した場合、同様であった。
3. Rt-PA を投与した群では CBF の改善とともに ATP は回復、24 時間後までに2次的な低下も認められなかった。CPS は ATP よりはずっと遅いものの 24 時間後には部分的ではあるがやはり改善が認められた。この代謝パラメータの変化は塞栓糸を用いた脳虚血モデルでの結果とは、「2次的なエネルギー代謝の低下が認められない点」および「蛋白合成能も回復する点」の2点において大きく異なっていた。

4. オートラジオグラフィーを用いた CBF 測定では本モデルにおいては再灌流により虚血前の 90% まで CBF が回復したが、塞栓系のモデルでは 70%までにとどまっており、この再灌流後の CBF の違いが 3. の代謝パラメータの変化の違いに寄与している可能性が示された。
5. Immediate early genes の *c-fos*、*junB* は虚血側のいわゆる正常代謝領域(CPS, ATP とも保たれている領域)に主に発現していた。非治療群ではこれら mRNA の発現は遷延しており 24 時間後にも 5 匹中 2 匹で同部位に発現していた。rt-PA 投与群では血流が再開した後も 3 時間後までは発現がつづいていたがそののち消退し 6 時間後にはすべてのマウスで発現が停止しており、rt-PA 投与群における虚血周囲の脱分極(peri-infarct depolarization)の早期消退が間接的に示された。
6. Heat shock protein 70 (*hsp70*) mRNA は非治療群では metabolic penumbra の領域に厳密に一致して発現し、その消失とともに停止したが、rt-PA 投与群では再灌流に伴う CPS/ATP-mismatch の部分に強く発現し、これは 24 時間後まで継続した。これにより、再灌流の有無に関わらず *Hsp70* mRNA の発現はその組織の代謝状態を間接的に知りうるよいマーカーとなることが示された。

以上より、本研究で新しく作成したヒトにより近い脳虚血・再灌流モデルでは今まで広く用いられてきた塞栓系のモデルと比較して代謝パラメータの変化に大きな違いがあることが示された。また rt-PA による血栓溶解療法後に *c-fos*、*junB* および *hsp70* mRNA といった代表的な遺伝子が代謝パラメータと密接に関連して発現していることが初めて示された。これらの知見は今後の脳梗塞の治療薬の開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。