

審査の結果の要旨

氏名 陳 毅力

本研究は、これまでに報告されているマウス脳局所虚血モデルの弱点を明らかにしてその原因因子を同定した。手技に修正を加えて再現性の良い虚血モデルを作成した。さらに薬物投与の実験系に関しても小脳延髄槽経由での髄腔内投与法を開発した。これらのマウス実験手法を応用して治療薬の評価を行った。下記の結果を得ている。

1. マウスの脳局所虚血モデル（中大脳動脈閉塞：middle cerebral artery occlusion[MCAO]）は、もっとも広く使用されている脳梗塞モデルの一つであるが、脳梗塞巣の大きさにばらつきが多く再現性の良いモデルの開発が必要とされてきた。本研究では、脳梗塞のばらつきが、中大脳動脈閉塞中における、側副血行路からの血流供給による影響があるとの仮説を形成し、まず血管解剖を詳細に検討した。マウスにおいては外頸動脈からの分枝にバリエーションが豊富であることが明らかとなった。後頭動脈は、外頸動脈から分枝する、内頸動脈から分枝するなどのパターンがあった（新しい血管解剖知見）。さらに、脳血流に大きな影響を与える頸部血管として内頸動脈の分枝である翼突口蓋動脈：pterygopalatine artery (PPA) が重要であることが判明した。PPAの血流が残ると中大脳動脈閉塞中でもMCA領域は側副血行路からの血流供給を受けことが、持続脳血流モニタリングで判明した。この血流量により脳虚血の程度に差異が生じることに脳梗塞体積にばらつきが発生することが判明した。
これまでのマウスMCA閉塞モデルでは、PPAにまで言及したものがなかった。本研究ではPPAによる脳血流への影響を明らかにした。さらにPPA血流の遮断を低侵襲的に行う方法を考案（クリップで一時遮断すること）して、MCAOにおけるMCA領域の低下させた脳血流を安定させることができた。再現性の良いマウスMCAOモデルを作成することができた。
2. 薬物の脳槽内投与法を開発した。これまで髄腔投与法としては脳室への投与が一般的であったが、脳梗塞の病的状態では脳腫脹のため手技的な困難さを伴った。小脳延髄槽に直視下に薬物投与する方法を確立した。これまで報告されている経皮的脳槽内投与法（blind injection）に比較して、本法は直視下手技のため脳幹への損傷が回避でき確実性の高い投与が可能となった。
3. この脳虚血モデルを用いて薬物評価を行った。PGI₂ アゴニストであるONO-1301（1mg/kg）は、脳梗塞縮小効果は示されなかったものの脳浮腫の軽減効果が示唆された。脳梗塞後の脳浮腫軽減効果については、今後の検討の余地があると思われます。
4. この虚血モデルを用いて脳梗塞発症70分後に、ダントロレン（20μM）を脳槽内投与し評価した。ダントロレンは脳梗塞縮小効果を示すことが判明した。今後、ダントロレン投与による神経保護作用に関する臨床への応用の可能性を示した。

以上、本論文は、これまでのマウス中大脳動脈閉塞モデル弱点を明らかにし、その原因を究明した。これを克服し、再現性の良い脳梗塞を作成することに成功した。さらに脳槽内への薬物投与法を考案した。これらの実験手法を薬物の評価にも応用した。ダントロレンは脳梗塞の縮小効果があることが明らかにされた。提示した実験手法は、今後、増加すると予想される遺伝子改変マウスに研究に応用することが可能であり、脳虚血病態を分子レベルで解明にする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。