

氏名	野村昌彦
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第1080号
学位授与の日付	平成27年3月12日
学位論文題名	小動物PETとラット脳傷害モデルによるミクログリア活性化イメージングの研究
指導教授	外山宏
論文審査委員	主査 教授 廣瀬雄一 副査 教授 武藤多津郎 教授 秦龍二

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

脳疾患に対する研究として従来は脳神経細胞を対象として行われてきたが、近年では星状膠細胞やミクログリアなど神経膠細胞の役割が重要視されるようになってきた。ミクログリアは貪食作用や神経細胞の保守点検作用、神経保護作用を持っている。また、ミクログリアは通常の成熟動物脳では分岐した突起をもつ休止型を呈しているが、様々な疾患で活性化されることが知られている。この活性化されたミクログリアが保護的または傷害性に働くのか区別することが病態の解明に必要である。ミクログリアは活性化すると末梢性ベンゾジアゼピン受容体(PBR)/ミトコンドリア外膜輸送蛋白(TSPO)が細胞膜へ移動するためPBR/TSPOに集積するリガンドを用いることでミクログリアの活性化を評価することが可能である。小動物用のPETによりマウス/ラットの撮像を行うことで組織学的検査に比べ経時的な変化の評価が容易という利点がある。これまでの我々の研究で、PK11195によるPBR/TSPO信号は活性化ミクログリアと関連が深いこと、LPS投与により神経毒性を有するようになったミクログリアと関連が深いことが分かった。しかし、PK11195は脳移行性及び特異性が低いという問題点があった。今回、PK11195よりもPBR/TSPOへの結合率のよいFEPPAを用いてラット脳傷害モデルにおけるミクログリアの活性化に関してFEPPA PETの集積と免疫染色による形態変化、炎症性サイトカインとの関係を検討した。

### 第1章 ミクログリア活性化の画像診断—新規PBR/TSPO PETによるアプローチと多角的検証

#### 【目的】

脳傷害モデルラットを作成後LPSを腹腔内投与し、ミクログリアの活性化、ドーパミン神経の変性、サイトカイン発現の関係をFEPPAによるPBR/TSPO PETと免疫組織学的評価、遺伝子解析を用いて検討した。

#### 【方法】

片側線条体に6-OHDAを注入した傷害モデルラットを用い、LPS投与群と生食群を比較した。LPS投与2日後にFEPPA PETを撮像後、脳を摘出し、ミクログリア、ドーパミン

及びDOPAC、TNF $\alpha$ 及びIL1- $\beta$ を比較した。

#### 【結果】

LPS投与により、PBR/TSPO信号と活性化ミクログリア、炎症性サイトカインは増加、ドーパミン神経は低下傾向を認めた。これらは有意な差を検出できなかった。脳傷害モデル、LPS腹腔内投与効果の個体差の影響と考えられたことから、第2章の同一のモデルラットのLPS投与前後の比較実験の発想に至った。

### 第2章 急性脳傷害ラットモデルにおけるPBR/TSPO PETイメージングの検討

#### 【目的】

動物モデルでの個体差の影響を考慮し、PETの繰り返しの測定が可能であるという利点を生かし、同一ラットで比較する新たなプロトコルで実験した。LPS腹腔内投与によるミクログリアの活性化との関係を検出できるかどうか検討した。

#### 【方法】

第1章と同様に脳傷害モデルラットを作成し、LPS投与前後のFEPPA PET撮像を行った。検査後、脳を取り出し、第1章と同様に活性化ミクログリアと炎症性サイトカイン、免疫組織染色との比較検討を行った。

#### 【結果】

PBR/TSPO信号は、生食群と比べLPS群で有意に増加しており、LPS投与でFEPPA PETによるPBR/TSPO信号の増加を投与4時間後の急性反応として確認でき、免疫染色でも活性化ミクログリアが多く認められた。サイトカインの発現は増加傾向にあった。

#### 【結語】

神経細胞が傷害され、ミクログリアが活性化されると炎症性サイトカインが発現し、神経受容体(PBR/TSPO)が増加することをPETの信号として確認できた。PBR/TSPOの発現とミクログリアの活性化との関係が示唆された。PETで生体内の神経受容体(PBR/TSPO)をモニタリングできれば、脳神経障害の客観的な診断法として臨床的な有用性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

脳内のミクログリアでは、活性化の際に末梢性ベンゾジアゼピン受容体(PBR)/ミトコンドリア外膜輸送蛋白(TSPO)が細胞膜へ移動するため、PBR/TSPOに対するリガンドを用いることで、理論的にはポジトロンCT(PET)による活性化の評価が可能である。本研究は、この手法によるPET画像と、免疫組織化学によるミクログリアの形態変化や炎症性サイトカインのmRNA半定量的結果とを比較することにより、ミクログリアの活性化を生体外から測定する試みとして注目された。審査では、PBR/TSPO PET信号の増加がミクログリアの活性化を示していることは明らかであるが、細胞傷害性と神経保護作用のどちらに関係しているのかが議論となった。画像所見の生理的意義を示すためには、本実験で測定したサイトカインのみでなく、NOなど他のパラメーターによる検討、ミクログリアの染色法が今後の検討課題であるとされた。今後、定量法を確立することにより詳細なPET信号の評価が可能であるとされた。また、本研究では実験的パーキンソン病モデルが用いられたが、線条体以外の部分の病態観察が可能であるか、臨床への応用がどの程度現実的であるか、といった質問が出されたが、解像度の向上など課題が残っていることが議論された。総合的には、さらに臨床的に有用性の高いものへの発展が期待される研究内容であることから、学位論文として十分な内容であると評価された。