

(第3号様式)

学位論文要旨

氏名 矢野 喜昭

論文名 五苓散はアクアポリン4の発現を制御することにより脳浮腫を抑制する：幼弱ラット低酸素性虚血性脳症モデルを用いた検討

学位論文要旨

【背景】

小児期の低酸素性虚血性脳症 (Hypoxic-ischemic encephalopathy: HIS) に対する治療は現在でも対症療法に限られる。HIS は全年齢で発生し、原因として心筋梗塞、心停止、窒息など、小児期では新生児仮死、溺水、心停止などの頻度が高い。HIS の治療は、従来の呼吸循環管理や薬物療法に加え、近年では脳低温療法が行なわれているが効果は限定的である。また自己臍帯血幹細胞療法も試みられているが研究段階であり新たな治療が望まれる。

脳浮腫は HIS に伴い認められ、頭蓋内圧亢進や脳ヘルニアにより障害部位以外の組織障害を引き起こす。近年、アクアポリン4 (AQP4) が脳浮腫形成に関与するとの報告がある。しかし小児期 HIS の病態と AQP4 の関わりや治療法についての報告は少ない。一方、五苓散が脳浮腫に有効との基礎研究が散見され、成人の慢性硬膜下血腫に対し有効であったとする臨床研究もあるが、HIS への効果は不明である。

既存の HIS 動物モデルは成人と新生児期が対象で、小児期のモデルはない。そこで本研究では小児期 HIS 動物モデルを作成し、五苓散の有効性及び AQP4 発現に及ぼす影響を検討した。

【方法】

1：低酸素性虚血性脳症における五苓散の有効性

ヒトの小児期に相当する日齢 21 の幼弱 Wistar 雄性ラット 26 匹を、五苓散群 (13 匹) と対照群 (13 匹) に分け、各々に五苓散 (2g/kg) と生理食塩水を投与した。薬剤投与 1 時間後に麻酔鎮静下に頸部正中切開を行い、右側外頸動脈から右側中大脳動脈にスレッドを挿入し 60 分間の塞栓後にスレッドを抜去し右側総頸動脈永久結紮を加えた。術後 24 と 48 時間後に動物用 MRI を用いて拡散強調画像 (DWI) 及び T2 強調画像 (T2w) で病変面積を測定し、病変面積比率 = (患側病変面積 - 健側高信号面積) / 全面積 (%) を算出した。また処置後 14 日間の生存率を比較した。

2：低酸素性虚血性脳症における五苓散がアクアポリン4に与える影響

日齢 21 の Wister 雄性ラット 18 匹を、五苓散群 (6 匹)、対照群 (6 匹)、sham 対照群 (6 匹) に分け、五苓散群には五苓散 (2g/kg)、対照群と sham 対照群には生理食塩水を投与した。五苓散群および対照群には、薬剤投与 1 時間後に麻酔鎮静下に前述の方法で右側中大脳動脈に 60 分間の一過性虚血を負荷し、右側総頸動脈に永久結紮を加えた。術後 24 時間で動物用 MRI にて病変形成を確認し、術後 36 時間で全身麻酔下に脳を取り出し、病変側の虚血部位と非病変側組織における AQP4 mRNA 発現量および AQP4 蛋白質量に対する五苓散の効果を査定した。

【結果】

1：五苓散は低酸素性虚血性脳症の病変を縮小させ生存率を改善した

成熟ラットで虚血性病変を作成可能な中大脳動脈の一過性虚血負荷のみでは幼弱ラットでは病変を全く認めず、中大脳動脈一過性虚血に同側総頸動脈に永久結紮を加えることで高率に虚血性病変を作成することができた。

五苓散の低酸素性虚血性脳症への効果は、DWI では五苓散群で術後 24 時間 ($p=0.0042$) 及び 48 時間 ($p=0.0072$) とともに有意に対照群に比し病変面積比率が低下した。T2w でも五苓散群で術後 24 時間 ($p=0.0023$) 及び 48 時間 ($p=0.038$) で対照群に比し有意な病変面積比率の低下が認められた。また術後 14 日間の生存率は、五苓散群は対照群に比して有意に改善した ($p=0.03$)。

2：五苓散は低酸素性虚血性脳症の亜急性期における AQP4 mRNA の上昇を抑制した

対照群病変部位の AQP4 mRNA が sham 対照群に比し有意に増加した ($p<0.0001$) のに対して、五苓散群では有意な抑制が認められた ($p=0.0008$) が、この時期における蛋白質量に対しては有意な効果は示さなかった。

【考察・結論】

ヒト小児期相当の幼弱ラットを用いた本研究で、五苓散は AQP4 mRNA 発現抑制という新規な効果を介して HIS に伴う脳浮腫を抑制し生存率を改善することが明らかとなった。成熟ラットにおける実験で、AQP4 mRNA は、実験的 HIS 誘導後は漸進的に増加するのに対し、AQP4 蛋白質量は誘導後急性期(術後 6~12 時間)には上昇するが、亜急性期(24~48 時間)には一旦減少し、のち慢性期(72 時間以降)に再び発現亢進するという異なる経過を辿ることが報告されている。本研究では五苓散は HIS に伴う脳浮腫を抑制し生存率を高めたが、これには亜急性期の AQP4 mRNA 発現上昇抑制が伴っており、このことが慢性期の AQP4 発現亢進を阻害したことで脳浮腫を抑制したと考えられる。AQP4 遺伝子欠失モデルでは脳虚血に伴う脳浮腫が抑制されるとの既報はこの考察を支持する。今回の結果は、ヒト小児のみならず全年齢の HIS に対する新たな治療法開発への発展が期待される。

キーワード (3~5)

五苓散、低酸素性虚血性脳症、脳浮腫、アクアポリン4、小児