

学位論文の要約
(研究成果のまとめ)

氏名 関谷 慶介

学位論文名

一酸化炭素中毒後遅発性脳症はマイクログリアの減少と神経栄養因子の分泌低下により起こる

学位論文の要約

(はじめに)

一酸化炭素 (CO) 中毒は、急性期には高濃度で意識障害を起こし死に至る。急性期の中毒症状から回復しても、その数日から数週後に遅発性脳症 (DE) と言われる神経障害を呈することがある。臨床的に DE では脱髄が認められ、近年においては、他の脱髄性疾患や神経変性疾患と同様に、脳内の免疫担当細胞であるマイクログリア (MG) の活性化が原因の一端である可能性が報告されている。しかしながら、その詳しいメカニズムは依然不明確である。また、純粋な低酸素による脳傷害との違いも明らかでない。今回我々は、DE の免疫学的、病態生理学的なメカニズムの解明と、純粋な低酸素性脳傷害との違いの解明を試みた。

(方法)

8週齢の雄性Wistarラットを用いた。空気群、CO群 (1000ppmのCOを40分間吸入させた後に3000ppmのCOを最長で20分間吸入) 低酸素群 (O₂濃度8%40分にO₂濃度4%20分) の3群に振り分けた。低酸素群における酸素濃度は、CO群の動脈血液ガス分析から得られたCO 1000ppm、3000ppmそれぞれの際のO₂Hbの値をもとに決定した。その後3週間に渡り、パッシングアボイダンスシステムを用いた受動的回避実験で長期学習行動への影響を調べた。また、採取した海馬組織を定量的リアルタイムPCR、Western Blotting、免疫沈降法、フローサイトメトリー、免疫組織化学等の手法を用い、分子機構の違いを検討した。

(結果)

受動的回避実験では、暴露7日以降にCO群においてのみ有意な記憶障害が認められた。またCO群、低酸素群共に3日以降にMBP、GST π 等のオリゴデンドロサイト (OL) のマーカーのmRNAおよび蛋白の減少が認められ、脱髄の存在が示唆された。特にCO群では21日後まで継続していた。また、オリゴデンドロサイトの前駆細胞 (OPCs) のマーカーであるNG2でも同様の結果が得られ、成熟ミエリンだけではなく、CO群ではその前駆細胞から減少していることが示唆された。軸索、神経細胞等のmRNAの発現は、21日にかけて低酸素群よりもCO群で有意に低下していた。これらの現象とMGとの関連を検討した。CO吸入群のみMGに関連するmRNAおよび蛋白の発現が7日から21日にかけて低下していた。さらにフローサイトメトリー分析では、吸入7日目のMGの細胞数がCO群でのみ減少していることが明らかになった。暴露7日目の免疫組織化学で

は、CO群ではMGの樹状突起はちぎれ、数も減少していた。一方、低酸素群ではMGは活性化し、その細胞膜上にNG2の発現を認めた。CO群における海馬の神経細胞は、空気群、低酸素群よりも減少していた。海馬組織内の神経栄養因子に関連するmRNAの発現では、IGFs, FGF-2, HGFなどの神経栄養因子がCO群においてのみ減少した。暴露後7日において、各群のMGをマイクロビーズにより単離し、各栄養因子のmRNAの発現を比較したところ、CO群のMGで有意に減少した。対照的に低酸素群のMGでは、IGF-1およびHGFのmRNAの発現が有意に増加していた。CO群の海馬組織におけるアポトーシスを評価したところ、切断型カスパーゼ3及び、BAK, BADなどの内因性アポトーシス促進因子のmRNAの発現上昇が認められた。

(考察)

本研究ではCOによる脱髄は低酸素による脱髄よりも重篤かつ持続的であった。CO群で認められたOPCsの減少は、脱髄の持続や再ミエリン化の遅延の原因となる可能性がある。また、海馬の神経細胞への損傷は、記憶および認知障害を引き起こすが、7日以降の海馬における神経損傷は、低酸素群に比べCO群でより重篤であることが示唆された。本研究では従来の遅発性脳症発症の仮説であったMGの活性化がCO群では認められなかった。しかし、低酸素群ではCD11b⁺ / NG2⁺の活性化MGが観察された。このようなMGは脳梗塞などにおいて、貪食に関与していると考えられている。CO群においてMGが減少するのに対し、低酸素群ではMGが活性化している点は、二つの病態が大きく異なることを意味している。MGは様々な神経栄養因子を分泌することで神経細胞や他のグリア細胞を栄養し、その生存や成熟に関与する。中でもIGFsやHGFはOPCsや神経細胞の生存、成熟に不可欠である。CO群ではMGの減少による神経栄養因子の減少が、神経細胞やミエリンの傷害、脱髄の遷延、遅発性脳症の発症と関連するのかもしれない。COや低酸素暴露による海馬におけるアポトーシス経路は、低酸素曝露群は内因性経路に影響を認めない一方で、CO群では一回の曝露でさえも、長期に内因性経路が刺激されていた。このことから、二つの病態はアポトーシス経路も異なることが示唆された。

(結論)

以上よりCO中毒後遅発性脳症は、低酸素血症性低酸素脳症と病態生理学的に異なることが示された。CO曝露によるミエリンおよび神経細胞への障害は、低酸素症と比較して重度で連続的である。CO中毒では、MG由来神経栄養因子の減少が、OPCsの成熟を阻害し、遅発性脳症の一因となる可能性がある。CO中毒時においてMGやOPCsの保護、神経栄養因子の補充は、CO中毒後遅発性脳症の治療および予防のターゲットとなる可能性がある。

この動物実験は、愛媛大学医学部の動物実験の倫理委員会によって承認されている。なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済である。

主論文 : Sekiya K, Nishihara T, Abe N, Konishi A, Nandate H, Hamada T, Ikemune K, Takasaki Y, Tanaka J, Asano M, Yorozuya T: Carbon monoxide poisoning-induced delayed encephalopathy accompanies decreased microglial cell numbers: Distinctive pathophysiological features from hypoxemia-induced brain damage. Brain Research 1710: 22-32, 2018 DOI: 10.1016/j.brainres.2018.12.027