

学 位 論 文 題 名

磁気共鳴画像法 (MRI) を用いたラット脳の
器質的, 機能的変化の解析

学位論文内容の要旨

1980 年代後半より急速に発展を遂げたは、水および脂肪の空間分布を画像化する断層撮像法であるが臨床画像診断学において、非侵襲性、高いコントラスト等、従来の画像診断装置に比較し優れた特徴を有している。

本研究では、様々な磁気共鳴画像法(Magnetic Resonance Imaging: MRI)の撮像法および MRI 造影剤を用い、中枢神経系の障害モデル動物の脳 MRI 画像を撮像し、撮像断面の詳細な病理検索結果との比較から、第 I 編では MRI の原理と MR 造影剤の診断的有用性を検討した。これらの系を応用し第 II 編では脳卒中下での脳の器質的、機能的変化の解析を行い、そこから得られた様々な所見を用い第 III 編では脳卒中発症に伴う各種障害に対する薬物の効力を検討した。最後に第 IV 編として中枢神経系における髄鞘形成過程の解析を試み、基礎研究における中枢神経系での MRI 検索の診断的有用性、可能性を検討した。

I. MRI の原理と MR 造影剤の診断的有用性

1. MRI の原理

組織内のプロトン、その環境、構成成分の違いからそれぞれ独特の T1 値、T2 値と呼ばれる物理化学的性質をもっている。MRI では、撮影パラメータを変えることにより、通常 T1 値、T2 値の組織間の相対的な違いを強調し、コントラストとして画像を構成する。MRI における造影剤は、生体組織中の水の緩和時間(T1, T2 値)を変化させ組織間のコントラストを増強すること、および血流や各器官の機能を知ることを目的として使用され高い評価を得ている。

2. MR 造影剤の中枢毒性比較

本研究では、あらかじめ脳片半球の BBB を損傷させたラットを用い 4 種の細胞外 MR 造影剤の中枢毒性を比較した。この結果、現在の臨床用量の 30 倍である 3 mmol Gd/kg 用量では、Gd-DTPA を除いた Gd-DTPA-BMA、Gd-DO3A-HP および Gd-DO3A-butrol の 3 製剤群で全身の痙攣が認められ、投与 1 時間以内に死亡する動物が認められた。1 mmol Gd/kg 用量では Gd-DO3A-HP 群のみ上記症状を示す動物が確認されたが、3 mmol Gd/kg Gd-DTPA と Gd-DO3A-HP 投与後の脳内 Gd 濃度に差異がないことから、これら中枢毒性の製剤間の相異は Gd 錯体の脳実質内移行量の差ではなく、製剤自身の化学毒性の差によるものと推察された。

II. 脳卒中易発症高血圧自然発症ラットを用いた脳卒中の解析

SHRSP の起こす脳卒中は、病理学的検索からもヒトのそれと酷似していることが明らかにされている。ここでは、SHRSP の脳卒中発症前後の神経学的観察に加え、第 1 部で述べた MRI 手法を統合的に使用することにより、SHRSP の脳卒中に伴う急性期、慢性期の脳内変化を非侵襲的に観察し病理学的検索結果と比較検討した。

1. 脳卒中急性期の脳内変化

脳卒中発症を示す神経症状発症 1~2 日目の MRI 検索では、T2-WI 上、皮質、視床等の域に異常高信号領域が認められ、これら高信号領域は病理検索上、浮腫、グリオーシス、軟化、膿胞等の浮腫的变化を示す組織領域と一致していた。T1-WI 上では異常高信号は認められなかったが、造影剤 Gd-DTPA を用いた造影 T1 強調画像(Gd-T1-WI)では、T2-WI 上高信号を示す脳領域の内 8 割の領域で斑状の高信号部位が造影検出された。これら造影部位は病理検索の結果、血管壊死や血栓に一致し、BBB の障害と考えられた。さらに、何れの画像上においても異常低信号として認められた領域は凝血塊に一致し deoxy hemoglobin の存在が示唆された。

以上、各種 MRI 検索により SHRSP の脳卒中発症に伴う様々な種類の脳血管障害の検出および識別診断が非侵襲的に可能であることが明らかとなり、本系が脳血管障害の発症過程の解明あるいは薬効評価のために有用であることが示された。

2. 脳卒中慢性期の脳内変化と脳機能障害

近年、装置の改良により拡散現象を強調した画像(拡散強調画像)の撮影が可能となったため、in vitro のみならず in vivo における組織の局所の見かけ上の拡散係数(apparent diffusion coefficient: ADC)の測定が、種々の病態の動的、質的解析に応用できるようになった。拡散強調画像を脳卒中慢性期の SHRSP の脳内変化観察に応用し浮腫組織の識別を試みた。この結果、脳卒中発症 1 週から 3 ヶ月経過した慢性期の SHRSP の脳内では T2-WI 上均一に高信号として描出される領域が、拡散強調の程度を変えることにより不均一に低信号となることが確認された。また、病理検索結果から同領域内には進行程度の違う浮腫領域が混在することが確認された。ADC の測定では、病理検索により同定された正常部位、浮腫、グリオーシス、膿胞の ADC は同順で有意に増加することが分かった。以上の結果、拡散強調画像による ADC の測定は、脳卒中発症慢性期に見られる浮腫領域の質的診断に有用であることが示唆された。

脳卒中発症に伴う神経症状から回復した SHRSP を卒中群、同週令の脳卒中非発症 SHRSP を非卒中群とし学習獲得試験を行った結果、卒中群では非卒中群に比較し顕著な学習獲得能力の低下が確認され、これら脳障害と学習獲得能力低下の程度に相関が認められた。この脳卒中後の学習獲得能力の低下は、慢性期に臨床で認められる脳血管性痴呆に相当するものと推察され、本系が脳血管性痴呆の原因解明および同症例に対する薬物の効力評価に適したものと考えられた。

III. 脳卒中に対するアンジオテンシン II 変換酵素阻害薬の効力評価

上記 MRI 検索を応用し、SHRSP の脳卒中発症後から新規アンジオテンシン変換酵素(angiotensin converting enzyme: ACE)阻害薬イミダプリルを投与することにより、脳卒中に伴う脳血管障害、脳機能障害、神経症状および心、腎障害に対する ACE 阻害薬の治療効果について検討した。

神経症状を示した悪性 SHRSP(malignant SHRSP: M-SHRSP)に MRI 検索を行い脳血管障害の確認された動物を非投与群、イミダプリル投与群の 2 群に分け検索した結果、投与群では全例、投与 1 週間以内に脳浮腫、BBB 損傷の消失とともに神経症状が回復しその後試験終了まで脳卒中の再発は起こらなかった。このとき、神経症状は抑制され延命効果が確認された。以上の結果より、ACE 阻害薬イミダプリルの抗脳浮腫、BBB 修復等の脳血管障害への治療効果が明らかにされ、これらの効果は脳血管への直接効果とアルドステロン分泌抑制を介した間接効果によるものと推察された。

IV. 成長に伴う中枢神経系の髄鞘形成過程の解析

拡散係数の測定は、拡散強調傾斜磁場(motion probe gradient: MPG)を一軸方向に付加した際、同方向の分子の拡散速度に依存し MR 信号が減衰することを利用し行われる。この原理を画像に応用しネコの脳白質あるいは脊髄において、神経線維の走行を描出することができることが報告され、この拡散異方性の原因は、神経線維に直角方向では水分子の動きが髄鞘により制限されるためと考えられているが未だ不明確である。

本研究では、髄鞘形成過程の異なる雄性 Wistar ラットを用い、視神経と三叉神経の神経線維に平行方向、直角方向の ADC を測定し拡散異方性との関係を検討した。この結果、視神経において神経線維に直角方向の ADC はほとんど変化しないのに対し、平行方向は週令に伴い増加し拡散異方性の増強が確認された。視神経横断面の電子顕微鏡による検索では神経線維の髄鞘化の進展が増すこと、縦断面の検索では週令に伴い神経線維の走行性に直進性が増すことが確認された。三叉神経の ADC は、直角方向では視神経同様週令による変化は認められず、平行方向では、上昇傾向は示したが有意差は認められなかった。電顕像では、2 週令ですでに大部分の神経線維が髄鞘化されており、週令による顕著な差は確認されなかった。以上の結果から拡散異方性の原因は、これまで考えられていた髄鞘による水分子の動きの制限ではないことが明らかとなり、成長に伴う拡散異方性の増強は神経線維の空間的走行に直進性が増すためであると考えられた。

以上各種 MRI の手法、MR 造影剤の使用によりラット脳内を非侵襲的に解析した結果、1) MR 造影剤の使用は、存在、機能診断に有用な情報を与えるが、その製剤間には製剤自身の化学毒性による中枢毒性に相異が見られ、造影剤の選択には十分注意する必要がある、2) SHRSP は脳卒中発症急性期より様々な脳血管障害を起こし、慢性期にかけ障害は増悪し、あるいは脳卒中を再発し致死することが明らかとなった。同時にこれら障害により脳の機能的障害も起こる、3) ACE 阻害薬イミダプリルの抗脳浮腫、BBB 修復等の脳血管障害への治療効果が明らかにされ、これらの効果は脳血管への直接効果とアルドステロン分泌抑制を介した間接効果によるものと推察され、これらにより学習獲得障害等の脳機能にも改善効果がある、4) 拡散強調画像により、神経線維の髄鞘化を定量的に解析することができ、拡散異方性の原因は、これまで考えられていた髄鞘による水分子の動きの制限ではなく、神経走行の空間的走行性に直進性が増すためである等、MRI による検索が正常あるいは病態下での脳の組織学的な変化およびそれらの障害に対する薬物の効果を評価し得る重要な情報を与えることが明らかとなった。

学位論文審査の要旨

主査	教授	栗原堅三
副査	教授	野村靖幸
副査	助教授	三宅教尚
副査	助教授	徳光幸子

学位論文題名

磁気共鳴画像法 (MRI) を用いたラット脳の 器質的, 機能的变化の解析

申請者は、長年磁気共鳴画像処理法を研究してきたが、このほど中枢神経系での磁気共鳴画像法(magnetic resonance imaging: MRI)の診断的有用性、可能性を検討した結果をまとめ、学位論文として提出した。

臨床使用上効力、副作用とも明らかな差が認められていない細胞外 MR 造影剤の中枢神経毒性を比較し実験では、現在の臨床用量の 10-30 倍である用量では中枢神経毒性に製剤間の明らかな差が認められ、これら中枢神経毒性の製剤間の相異はガドリニウム (Gd) 錯体の脳実質内移行量の差ではなく、製剤自身の化学毒性の差によるものと推察している。

中枢神経毒性の最も低かった MR 造影剤を使用した MRI 検索から脳卒中易発症ラット(stroke-prone spontaneously hypertensive rat: SHRSP)の起こす脳卒中は、急性期 T2 強調画像(weighted imaging: WI)上、皮質、視床等の域に異常高信号領域が認められ、これら高信号領域は病理検索上、浮腫、グリオシス、軟化、膿胞等の浮腫的变化を示す組織領域と一致していた。T1-WI 上では異常高信号は認められなかったが、造影剤 Gd-DTPA を用いた造影 T1 強調画像(Gd-T1-WI)では、T2-WI 上高信号を示す脳領域の内 8 割の領域で斑状の高信号部位が造影検出された。これら造影部位は病理検索の結果、血管壊死や血栓に一致し、脳-血液関門(blood-brain barrier: BBB)の障害と考えられた。さらに、何れの画像上においても異常低信号として認められた領域は凝血塊

に一致しデオキシヘモグロビンの存在を示唆した。以上の結果、各種 MRI 検索により SHRSP の脳卒中発症に伴う様々な種類の脳血管障害の検出および識別診断が非侵襲的に可能であることが明らかとなり、本系が脳血管障害の発症過程の解明あるいは薬効評価のために有用であることを示した。

SHRSP の脳卒中慢性期の脳内変化と脳機能障害の検索に拡散 (diffusion: Diff) WI を加え検索した結果、脳卒中発症 1 週から 3 ヶ月経過した慢性期の SHRSP の脳内では T2-WI 上均一に高信号として描出される領域が、拡散強調の程度を変えることにより不均一に低信号となることが確認された。また、病理検索結果から同領域内には進行程度の違う浮腫領域が混在することが確認された。見かけ上の拡散係数 (apparent diffusion coefficient: ADC) の測定では、病理検索により同定された正常部位、浮腫、グリオース、嚢胞の ADC は同順で有意に増加することが分かった。以上の結果、Diff-WI による ADC の測定は、脳卒中発症慢性期に見られる浮腫領域の質的診断に有用であることが示唆された。また、脳卒中発症に伴う神経症状から回復した SHRSP を卒中群、同週令の脳卒中非発症 SHRSP を非卒中群とし学習獲得試験を行った結果、卒中群では非卒中群に比較し顕著な学習獲得能力の低下が確認され、これら脳障害と学習獲得能力低下の程度に相関が認められた。この脳卒中後の学習獲得能力の低下は、慢性期に臨床で認められる脳血管性痴呆に相当するものと推察され、本系が脳血管性痴呆の原因解明および同症例に対する薬物の効力評価に適したものと考えた。

上記 MRI 検索を応用し、SHRSP の脳卒中発症後から新規アンジオテンシン変換酵素 (angiotensin converting enzyme: ACE) 阻害薬イミダプリルを投与することにより、脳卒中に伴う脳血管障害、脳機能障害、神経症状等に対する ACE 阻害薬の治療効果について検討した結果、投与群では全例、投与 1 週間以内に脳浮腫、BBB 損傷の消失とともに神経症状が回復しその後試験終了まで脳卒中の再発は起こらなかった。このとき、神経症状は抑制され延命効果が確認された。以上の結果より、ACE 阻害薬イミダプリルの抗脳浮腫、BBB 修復等の脳血管障害への治療効果が明らかにされ、これらの効果は脳血管への直接効果とアルドステロン分泌抑制

を介した間接効果によるものと推察された。

Diff-WI の応用により成長に伴う中枢神経系の髄鞘形成過程の解析を髄鞘形成過程の異なる雄性 Wistar ラットを用い、視神経と三叉神経の神経線維に平行方向、直角方向の ADC を測定し拡散異方性との関係を検討した結果、視神経において神経線維に直角方向の ADC はほとんど変化しないのに対し、平行方向は週令に伴い増加し拡散異方性の増強が確認された。視神経横断面の電子顕微鏡による検索では神経線維の髄鞘化の進展が増すこと、縦断面の検索では週令に伴い神経線維の走行性に直進性が増すことが確認された。三叉神経の ADC は、直角方向では視神経同様週令による変化は認められず、平行方向では、上昇傾向は示したが有意差は認められなかった。電顕像では、2 週令ですでに大部分の神経線維が髄鞘化されており、週令による顕著な差は確認されなかった。以上の結果から拡散異方性の原因は、これまで考えられていた髄鞘による水分子の動きの制限ではないことが明らかとなり、成長に伴う拡散異方性の増強は神経線維の空間的走行に直進性が増すためであると推論した。

以上各種 MRI の手法、MR 造影剤の使用によりラット脳内を非侵襲的に解析した結果、MRI による検索が正常あるいは病態下での脳の組織学的な変化およびそれらの障害に対する薬物の効果を評価し得る重要な情報を与えることを明らかにした。このように、本論文には MRI の脳に対する適用に関し数多くの新しい知見を含んでおり、博士（薬学）の学位を与えるにふさわしいものと、判定した。