

氏名	細尾 久幸		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 8716号		
学位授与年月	平成 30年 3月 23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	ナノ粒子化活性酸素消去剤（RNP）による脳虚血再灌流障害に対する Neurovascular Unit 保護効果の検証		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	島野 仁
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	瀬尾由広
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	坂本裕昭
副査	筑波大学助教	博士（理学）	山下年晴

## 論文の内容の要旨

細尾久幸氏の博士学位論文は、マウス一過性脳虚血モデルにおける新規活性酸素消去剤である活性酸素消去剤 TEMPO をミセル化した新規化合物 RNP(Radical containing nanoparticle) の効果を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

### （目的）

脳主幹動脈閉塞に対する急性期再開通療法後に生じる活性酸素種は、再灌流障害を引き起こし、脳梗塞拡大、頭蓋内出血により生命機能予後を悪化させる。その為、再開通療法後の再灌流障害を防ぐことは、急性期再開通療法のさらなる治療成績向上のために急務である。

### （方法）

著者は、活性酸素消去剤 TEMPO-RNP を、マウス一過性中大脳動脈閉塞による脳虚血モデルに経頸動脈的に投与し、急性期再開通後における脳神経血管保護効果を検証している。以下の実験を行った。(1)投与濃度検証；濃度をふりわけ、脳梗塞サイズ、神経症状を比較。(2)ローダミン標識 RNP の脳梗塞病巣における分布の検証(3h)。(3)Evans blue 漏出量の比較による RNP 血管保護効果の検証(4)RNP の脳保護効果の検証；脳梗塞サイズ、神経症状評価、そのほか蛍光免疫染色により、保護されている因子を検討した。(5)電子共鳴スピン EPR を用い、活性酸素種( $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{RO}$ 、 $\cdot\text{ROO}$ 、 $\cdot\text{O}_2^-$ 、)に対する抗酸化能を、脳をホモジナイズした上清サンプルを用いて検討。

### （結果）

結果は以下のようである。(1) 投与濃度検証では 9mg/kg が最も脳梗塞縮小効果、神経症状改善効果が得られた。(2) ローダミン標識 RNP による脳梗塞領域における分布評価では血管壁および神経細胞周囲に分布を確認している。(3) RNP 投与により、Evans blue の脳梗塞病巣への漏出量が減少を観察している。(4) RNP 投与群で、有意に神経症状が軽症化、脳梗塞サイズの縮小を観察している。脳梗塞病

巢内における CD31、Occludin の発現、アポトーシス神経細胞数を比較、血管および神経保護効果が示されたとしている。(5)脳ホモジナイズ上清サンプルの抗酸化能評価において RNP 群で PBS 群より有意に抗酸化能を観察している。

#### (考察)

これらを踏まえて著者は、TENPO-RNP 動脈投与により、抗酸化能を改善し、脳神経血管保護効果が得られる可能性が示唆されたと結論づけている。

### 審査の結果の要旨

#### (批評)

著者は従来より、一過性脳虚血モデルにおける活性酸素消去剤による脳神経血管保護効果の研究を行っている。本研究では、臨床で使用されているエダラボンと比べ、自身の酸化還元反応による触媒様作用により効率よく ROS を消去できる利点をもつ TEMPOL をさらにミセルに包埋して血中安定性を増強した新規薬剤ナノパーティクル TENPO-RNP をマウスで使用して新しい創薬の可能性を検討している。以前の静脈投与から動脈投与に変更し、使用していた量の 10 分の 1 で同等もしくはそれ以上の効果が得られるため副作用の軽減を図っている。実験手法も神経保護効果と血管保護効果を様々な手法を観察して結論を支持する結果を多面的に得ている。

特に抗酸化が神経と血管の両面に病態改善された点 Neurovascular unit 保護は重要な新規知見であり、病態的にも意味深い。著者は議論の中で神経と血管いずれも保護することが重要と考え、神経細胞そのものを保護することもさることながら、blood brain barrier を保護、温存することは、二次的脳損傷として脳浮腫、出血性脳梗塞を抑制する上で重要と考察している。さらに用量検討や投与タイミングなど熟慮された実験プロトコールは、動物実験とはいえ人の脳梗塞後への適応をめざした戦略になっており、臨床応用が期待される。

今後臨床応用に向けての課題として、RNP を動脈投与するタイミングを変えて検討することが示唆された。今回は再灌流後 20 分で投与としているが、フリーラジカル自体は再灌流直後に最も発生するとされているので、再灌流直後での投与や、もう少し時間がたってからの投与、また今回の動物モデルでは困難であるが、再灌流前に投与するなどの変法での効果や血管外への浸透性はどうかなどの検討により有用な知見が得られると著者は議論で述べている。再灌流前でも側副血行路があるので、虚血部位へ RNP が到達するので、有効である可能性があるとも推察していた。

平成 30 年 1 月 15 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。