

論文審査の結果の要旨

氏名：溝井 睦美

博士の専攻分野の名称：博士（薬学）

論文題名：脳細胞傷害マーカーとしてのアクロレインの有用性に関する研究

審査委員：(主査) 教授 草間 國子 ㊞
(副査) 教授 伊藤 芳久 ㊞ 教授 石毛 久美子 ㊞
教授 小野 真一 ㊞

本研究は高齢化が進行する我が国で罹患者数が増加の一途をたどっている脳梗塞ならびにアルツハイマー病 (AD) の新たな診断法として、細胞傷害によって生じるアクロレイン (Acro) に着目し、バイオマーカーとしての有用性を臨床研究から検討したものである。Acro 産生は、主に、細胞内で本来 RNA に結合していた大量のポリアミン (スペルミン、スペルミジン、プトレスシン) が細胞傷害時に遊離され、ポリアミンオキシダーゼが作用することによる。Acro は活性酸素種である過酸化水素に比較して *in vitro* でより強い細胞毒性を示す。Acro の遊離型は測定できないが、代わりにタンパク結合型アクロレイン (PC-Acro) として検出、もしくは Acro が組織内でグルタチオンと反応後、肝臓でメルカプツール酸抱合体である 3-ヒドロキシプロピルメルカプツール酸 (3-HPMA) となって尿中に排泄されたものを測定し、クレアチニン (Cre) 補正して評価できる。

第一章では、脳卒中患者における尿中 3-HPMA レベルと脳梗塞重症度の関連性を検討した。先行研究で脳梗塞患者の血漿中で上昇が判明していた PC-Acro であるが、今回測定した尿中の 3-HPMA は健常者 $2.83 \mu\text{mol/g Cre}$ に比べ脳梗塞患者では $1.56 \mu\text{mol/g Cre}$ と予想に反し有意に低下していた。低下の度合いは脳梗塞のサイズと相関しており、病巣が 1 cm 以上の患者群ではそれ以下の患者群より有意に低かった。また、脳梗塞、脳出血両者ではともに尿中 3-HPMA が健常者より有意に低下していたが、両疾患間で差は見られなかった。この変動は加齢等によるグルタチオンの大幅な低下を反映しているとみられ、代謝されずに残った Acro が病巣においてタンパク質に結合して不活化した結果、脳卒中発症を増悪したと推定された。

第二章では、軽度認知症 (MCI) および AD 患者血漿中の PC-Acro、 β アミロイドペプチド ($A\beta_{40}$ および $A\beta_{42}$) を測定し、認知機能障害ならびに画像診断との関係について検討した。血漿中の PC-Acro 値は、健常者に比較して MCI、AD で共に有意に上昇していた。さらに、 $A\beta_{40}$ 値および $A\beta_{42}$ 値の比 ($A\beta_{40/42}$) をとると、MCI、AD で同じく有意に上昇しており、PC-Acro 値と $A\beta_{40/42}$ との間には有意な相関がみられた。一方、大脳白質病変 (WMH) を有する非認知症者 (nd-WMH) においては、血漿中 PC-Acro 値および $A\beta_{40/42}$ はともに健常者に比べて上昇傾向にとどまった。PC-Acro 値、 $A\beta_{40/42}$ ならびに年齢をもとに算出された相対リスク値は、 $AD \geq MCI \gg nd-WMH \gg$ 健常者の順であった。本リスク値には各疾患群と健常者群とのあいだで有意な差があったが、AD と MCI 間に差はなかった。脳の器質性変化との関係では、WMH のグレードを 0、1-4、5-8 の 3 段階に分けたとき、 $A\beta_{40/42}$ 単独では WMH 各段階の識別につながらなかったが、PC-Acro/ $A\beta_{40/42}$ 比もしくは年齢/PC-Acro/ $A\beta_{40/42}$ 比ではグレード 0 との間で有意差が認められ、大がかりな装置を用いずともこれらの指標によって WMH の有無と程度が判定できることが判明し、PC-Acro 測定の意義が示された。

第三章では、前章で血漿中の指標では判別できなかった MCI と AD 間を識別できる指標を求め、脳脊髄液 (CSF) 検体を用いて検討した。これに先立ち、提供を受けた AD 患者 3 名の剖検脳組織中の $A\beta_{40}$ 、 $A\beta_{42}$ をウエスタンブロット法 (WB) で検出し非 AD 脳と比較したところ、健常者に比べて前頭

葉、側頭葉において両 A β の大幅な上昇が認められた。同検体の WB において、PC-Acro は両組織で共に約 1.4 倍と有意に上昇していた。免疫組織化学においても、AD 患者海馬における PC-Acro 陽性細胞数増加が確認された。CSF サンプルにおいて、MCI では AD に比較して、A β_{40} 値、A β_{40} /PC - Acro 比および A $\beta_{40/42}$ 比が有意に高く、識別可能であった。被検者の認知症スケール Mini-mental state examination 値と A β_{40} 、A β_{42} 、A β_{40} /PC - Acro および A β_{42} /PC - Acro の 4 指標との間には有意な相関が認められた。関連脳部位の萎縮度 (MRI に基づく Z-score) については、A β_{40} /PC - Acro、A β_{40} および A β_{42} /PC - Acro 各指標との間で有意な負の相関があった。一方、リン酸化タウタンパクの測定値からは AD と MCI は全く識別出来なかった。以上により、脳脊髄液中では A β_{40} /PC - Acro 比が脳の萎縮度の指標となり、認知機能に関しては A β_{40} と A β_{42} 両値が最も関連が深い、PC-Acro 測定を加えることにより患者のより詳細な評価が可能となった。

本研究は、我が国の医療において解決すべき大きな課題である脳卒中および AD について、その診断指標と病態を考える上で新たな知見を提供し、また検査法を進展させる成果といえることから、博士 (薬学) の学位授与に値するものと結論した。

以 上

平成 27 年 1 月 22 日