

氏 名	地 藤 純 哉
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 5 7 1 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 0 年 9 月 1 0 日
学 位 論 文 題 目	<b>Maturational Changes in Diffusion Anisotropy in the Rat Corpus Callosum: Comparison with Quantitative Histological Evaluation</b>  (ラット脳梁における fractional anisotropy (FA) 値の成長変 化 : 組織学的定量解析との比較検討)
審 査 委 員	主 査 教 授 工 藤 基  副 査 教 授 遠 山 育 夫  副 査 教 授 小 森 優

## 論文内容要旨

*整理番号	576	(ふりがな) 氏名	じとうじゅんや 地藤純哉
学位論文題目	Maturational Changes in Diffusion Anisotropy in the Rat Corpus Callosum: Comparison with Quantitative Histological Evaluation (ラット脳梁における fractional anisotropy (FA) 値の成長変化: 組織学的定量解析との比較検討)		
<p><b>目的</b>；水分子の拡散は生体内部の構造物に影響をうけるが白質では等方向に整列した神経線維に直交する方向の拡散は水平方向よりも強い制限を受ける。このように方向により拡散の速さに差があることを異方性が強いといい、MRI データより算出される fractional anisotropy (FA) 値は異方性の強さの代表的な指標である。白質の発達に伴い FA 値は増加し、これには軸索の髄鞘化が大きく影響しているとされるが髄鞘化のみが FA 値変化に影響しているのではないとも考えられている。成長期の FA 値変化についての以前の報告は組織学的変化との直接的な比較はなく、どの組織学的要素が最も大きく関与しているかは不明である。そこでラット脳梁の FA 値変化と定量測定した組織学的変化を比較検討し FA 値の成長変化に最も影響を及ぼす組織学的要素を分析した。</p> <p><b>方法</b>；生後 1-5, 10 週 (p1w-p5w, p10w) の SD rat 各週 6 匹、計 36 匹を対象とし 7.0-T MRI にて脳梁部の拡散テンソルデータを測定し平均 FA 値 (mFA) を算出した。灌流固定後左脳をトルイジンブルー染色し 1000 倍にて検鏡、デジタル化し単位面積あたりの各因子 (ミエリン鞘面積、細胞外腔、有髄及び無髄軸索の総数と総面積) の変化を画像解析で定量測定した。mFA と組織学的要素の相関は単回帰、重回帰分析で評価した。右脳は、免疫染色を行い画像解析の結果との定性比較を行った。</p> <p><b>結果</b>；mFA は生後 1-4 週で有意な増加変化を示すが、以降の変化は小さかった。薄切標本では有髄軸索は p2w に現れ始め、p3w で著しく増加した。p4w 以降では大多数の軸索は髄鞘化していた。これは MBP 染色の結果とよく一致した。対照的に NF 染色では、整然とした配列の軸索構造が p1w ですでに存在していた。単回帰分析ではミエリン鞘総面積が mFA の変化に強い相関を示した (<math>r=0.856; p&lt;0.01</math>)。stepwise 法でミエリン鞘総面積が mFA の変化に最も強く関与しており (<math>p&lt;0.001</math>)、無髄軸索数が続いた (<math>p=0.11</math>)。重回帰分析ではこの要素が高い相関係数を持って mFA 変化を予測する因子と判明した (<math>r^2 \text{ adj. } =0.738; p&lt;0.001</math>)。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続 紙)

考察；生体と固定脳からの拡散テンソルデータに違いはないとの報告もあるが、通常の生理的状況をより反映することから成熟変化を評価するためには *in vivo* 測定が適当と考えられる。我々は *in vivo* で信頼できる DTI データを測定できた。これより算出した mFA の変化は、p1w-p4w で急速増加しその後ほぼ plateau に達した。組織学的定量の結果では有髄軸索数及び面積、ミエリン鞘面積に同様の傾向を認めた。この髄鞘形成の進行に伴う変化は MBP 染色で見られる変化と一致した。また脳梁の髄鞘形成は生後 14-21 日に最も進行するとの報告を合わせると、ミエリン鞘面積及び有髄軸索の急速な増加が mFA の増加変化に強く関連していると考えられる。単回帰分析法では mFA とミエリン鞘面積の間に最も強い相関を認めた ( $r=0.856$ ;  $p<0.01$ )。重回帰分析でもミエリン鞘面積が mFA の成熟変化に最も大きく影響している因子であった ( $p<0.001$ )。ミエリン鞘膜は主にスフィンゴミエリンから成るがそれを含まない膜に比べ水浸透性が 10-30 倍低下するとされミエリン鞘は細胞内外の水拡散の障壁となり白質の異方性拡散に影響を及ぼす。生後 14-35 日のラット脳梁ではミエリン薄膜数の増加に伴いミエリン鞘の厚みが増加したと報告した。ミエリン鞘面積の増加にはミエリン薄膜数の増加も含まれており成長によるミエリン鞘の肥厚も mFA の変化に影響したと考えられる。

しかし髄鞘形成のみが成長期の FA 値変化の要因ではないとする報告もある。MBP 染色では p1w に少量のミエリン成分が認められるのに対し、NF 染色では軸索構造がすでに存在しており髄鞘形成期以前の発達段階では無髄軸索が FA 値に関与している可能性はある。軸索内 neurofilaments は拡散異方性への影響は少いとされ、軸索原形質の水拡散速度も純水の 70-80%程度であることから軸索の膜構造自体が拡散に関与し FA 値に影響しているのかもしれない。今回、重回帰分析では無髄軸索数は mFA に影響しうる因子だったが有意差はなかった。これは髄鞘形成の様に急速な増加変化を示さないためと考えられる。よって成長初期の発達においてミエリン鞘面積が mFA とより高い相関関係を生じたと考えられる。

細胞外腔の減少は、水拡散を制限し FA 値に影響を及ぼしうるが単回帰分析法で mFA と強い負の相関があった。しかし細胞外腔とミエリン鞘面積には強い負の相関を認め、両者には共線性があるため stepwise 分析にて除外した。

**結論**；ラット脳梁の成長初期の FA 値変化に最も強い相関があるのはミエリン鞘面積である。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	576	氏名	地藤 純哉
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>拡散テンソル画像法から算出される fractional anisotropy(FA)値は脳の発達解析にも応用されている。白質の発達に伴い FA 値が増加することには髄鞘化の影響が大きいとされるがその他の因子の関与も推察されている。しかしこれまでに組織学的変化との直接比較の報告はなく、どの組織要素が実際に関与しているかは不明であった。そこでラット脳梁の成長に伴う FA 値変化と定量測定した組織学的変化を比較検討し FA 値の変化に最も影響を及ぼす組織要素を分析した。</p> <p>結果は以下である</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. FA 値は生後 1-4 週に急速に増加し組織定量的結果、有髄軸索総数、有髄軸索総断面積、ミエリン鞘面積に同様の傾向を認めた</li> <li>2. 回帰分析の結果ミエリン鞘面積と無髄軸索数が FA 値の成熟変化に最も相関する組織因子であった</li> </ol> <p>以上より成長期における FA 値の変化に最も関与する組織因子はミエリン成分である。</p> <p>本論文は MR 画像法を用いた脳の発達及び疾病解析にあたり基礎情報を与えることで今後の発展に寄与すると考えられ、博士(医学)の学位授与に値する。</p>			
(平成20年 9 月 / 日)			