

## 2005 年度 美原賞受賞者抄録

### 受賞研究題名

細胞治療および脳虚血時の微小血管変化：*in vivo* 画像の研究

(Cell therapy and microvascular changes in cerebral ischaemia：*in vivo* imaging studies)

### 受賞者

Jacques Seylaz Ph D.

フランスパリ大学第7ラリボワジール-サンルイ病院医学部

国立衛生医学研究所（ユニット 689）循環器病センター

### 抄録

Jacques Seylaz は物理学および神経生物学の知識を駆使して、生物工学 (bioengineering) 脳循環の生理、病態生理 (cerebrovascular physiology and pathophysiology) の領域で独自の研究を展開してきた。彼はまず動物およびヒトにおいて脳循環代謝を調べる新しい方法を開発し、これらの方法を用いて脳循環の生理ならびに病態生理の新しい概念を導き出した。研究を始めるにあたって、彼は“脳内の神経経路が脳血流(CBF)を調節している”との仮説を立てた。彼の研究は、脳血管障害患者のための診断方法の改良ならびに治療ということを常に念頭においていた。

Jacques Seylaz は脳血流(CBF)の実験研究のためのフランスで最初の研究所を設立した。まず彼は、thermoclearance method によって半定量的に局所 CBF を連続測定することから始めた。彼はヒトの頸動脈の外科手術の際に使用できるいくつかの脳血管変数を詳細にモニターした。彼は、睡眠中のいろいろなフェーズの際の脳血流(CBF)変化を検討し、その連続記録から徐波睡眠および逆説睡眠の間に脳血流(CBF)が増加することを証明した。当時の支配的な理論に反して、彼のデータは、脳波を脳血流(CBF)の指標として用いることができないことを証明した。また彼は、アテロ-ム硬化に起因する疾患は、脳血管反応の調節破綻と結びついていることを見出し、例えば hyparcapnic となった状態における脳血流(CBF)変化測定に基づく病態診断のための基準を作成した。それと平行して、Jacques Seylaz は 133 Xenon を用いた局所脳血流の独自の非侵襲的測定法を開発した。これは、測定の自動化を促進し、そして普及へとつながった。彼は Sylvian artery の閉塞によってもたらされる局所血流不全による病態生理学的機序を明らかにした。これは側頭-シルビウスの血管吻合の際の血流供給手術のような外科的治療への道を開き、また正常圧水頭症に対する除圧を提言した。

Jacques Seylaz は、多くの補完的なアプローチを開発することによって研究戦略の発展に貢献してきた。その主要な目的は、脳血管へ分布している神経の役割、脳血流の調節機序、脳血流—代謝のカップリング、そしてそれらと脳血管障害との関連を見出すことであった。脳局所代謝は、脳血流調節において重要な役割を演じることが知られてきた。しかし、そ

これらの正確な機序、神経系とのバランスは不明であった。これらの各々の役割を深く追求するために、Jacques Seylaz は、脳組織内で連続的に PO<sub>2</sub> と PCO<sub>2</sub> を測定するために spectrometry を用いた。これにより局所の酸化機序を直接定量的に評価することを可能とした。またこの方法の利点を用いて、彼は局所血流の同時定量的測定のための Helium clearance 法を開発した。彼はまた、脳循環の自動調節機序を測定するための研究すなわち、高重力下での意識喪失の原因、また immobilization stress による脳血流変化に関する機序を検討した。次第に彼はこれらの技術を定量的な autoradiography と NMR とを結び付けるようになった。刺激と denervation の方法を用いて組織学的と機能的なアプローチから、研究チームを自律神経の脳血流への役割、denervation strategies による血管への影響に集中させるようになった。彼はリサーチチームとともに、脳血流が神経支配下にあることを証明した。さらに他の研究チームとの共同研究から、交感神経、副交感神経、そして三叉神経の脳血管への影響、さらにカテコールアミンの血管運動への役割を解明した。脳内神経線維の活性化が脳血流を局所的に調節すること、Nitric Oxide (NO) 放出神経線維が脳血管周囲にあることが確認されたことから、彼らは蛍光 confocal 顕微鏡を用いた免疫組織化学的検討を開始した。そして、(NO) 放出神経線維の神経細胞内から脳内微小血管の間の co-localization を証明した。彼のチームはまた、さまざまな環境下での神経細胞由来の NO が血管拡張性に働いていることを示した。

彼はさらに癲癇発作のような脳の活性化刺激の際の局所血流の調節について調べた。そのような状況下で、神経細胞から放出されるアデノシンとか NO が局所微小循環変化にどのように作用するか明確にすることに貢献した。Jacques Seylaz はまた虚血病巣でのグルタメートの役割をいくつかの虚血モデルをこしらえて検討した。彼のチームはさらに小動物において組織障害の重傷度の NMR 画像、pectrometry、microdialysis、組織学的な評価から、虚血カスケードの性格付け、マグネシウムの神経保護作用の証明、NMDA 受容器に関連するチャンネルブロッカーなどを調べた。

彼の最近開発した方法は、ラットおよびマウスの皮質微小循環を *in vivo* でリアルタイムに観察することを目的とした。laser scanning confocal 蛍光顕微鏡を用い、頭窓を通してラベルされた赤血球をビデオモニターで可視化することに成功した。この方法によって、顕微鏡下の実験動物の脳皮質の 200- $\mu\text{m}$  の深さにおける毛細血管を動的にモニターすることを可能とした。この方法は虚血周囲の皮質 spreading depression、あるいは一過性全脳虚血における反応性充血における毛細血管を通した赤血球の動きを検討をすることができ、微小血管の口径変化、血流の逆流、そして局所微小循環における神経細胞によって増加した NO 放出の役割の証明に用いられた。

彼は、慢性的に、少なくとも一ヶ月以上にわたり反復して同じ動物(マウス)で同じ部位の脳微小循環の画像解析し得る方法を開発した。そして、虚血中心部内の虚血微小循環を検討することを可能とするために、Jacques Seylaz は頭窓を通して直接中大脳動脈の末端を熱凝固することに成功した。この新しい虚血モデルの性状は *in vivo* において MRI を用い

て確認された。また、免疫組織化学的にも *ex vivo* において補完的に確認された。最後に、革新的な方法で、彼は現在のところマウスの虚血脳にさまざまな幹細胞を移植し、その後の経過を *in vivo* モニターリングすることによって、脳内における細胞治療の可能性を検討している。その全体の治療戦略は **laser-scanning confocal** 蛍光顕微鏡を用いて、長期間移植した細胞を *in vivo* で画像化に成功したことにある。これら移植細胞は **green fluorescent protein (GFP)** を発現する遺伝子改変マウスから得られ、脳虚血を有するマウスに **stereotaxically** に移植され、検討がなされている。全体を通じて、彼の研究チームのデータは様々な臓器由来の幹細胞が虚血および虚血周辺領域へと移動 (**migrate**) し、脳神経細胞の回復に有益となるであろう脳神経系への遺伝子治療に使用し得るであろう。このアプローチは今後数年間の彼の研究計画の基礎となっている。