

## 論文の内容の要旨

論文題目 放射線影響による認知機能障害に関するfMRIを用いた研究

氏名 阿部 欣史

### 【背景・目的】

所属する研究室において、成体の海馬におけるニューロン新生現象に関する研究が長年行われてきた。この海馬新生ニューロンは、海馬歯状回 (dentate gyrus; DG) に存在する神経幹細胞から分裂し分化・成熟した新しいニューロンである。海馬は認知機能をつかさどる脳領域であり、新生ニューロンは記憶機能や情動の調節に関わっている。幹細胞が放射線照射に対する感受性が高いことを利用して、新生ニューロンのはたらきを調べるためにこの新生ニューロンを除去するための実験的方法として、動物個体を放射線照射する方法が用いられてきた。一般的に、人のガン治療のために頭部へ放射線を照射した際に、その副作用として認知機能障害が生じることがあるが、その原因とし海馬新生ニューロンの消失が挙げられる。特に小児ガンでは、発達途中の脳に放射線を照射するため、子供の知能発達に大きな影響を残してしまう。また高齢者への放射線治療では認知症を誘発する可能性もある。ガン治療において、その副作用を軽減させる事、また回復させる事はとても重要な課題となる。

人において脳機能を調べ、その回復を評価していくためには、非侵襲的な計測方法が必要となる。この方法のひとつに functional magnetic resonance imaging (fMRI) がある。fMRI は神経活動に伴う血流変化として捉え、間接的に神経活動を評価する方法である。従来、fMRI の研究はヒトを対象とした研究が多かったが、fMRI 技術の発展に伴いラット及びマウスなどの小動物における fMRI 研究も可能となった。これにより、ヒトだけではなく小動物も用いた非侵襲的な脳機能研究が可能となった。

本研究では、小動物の研究に fMRI を導入することにより、まずは、頭部に放射線を照射したラット及びマウスを用いて、放射線照射による認知機能変化と海馬ネットワーク変化に関する研究を fMRI により行なった。そして、動物実験の結果を踏まえて、頭部への放射線治療を受けたガン患者を研究対象として、fMRI を用いて放射線治療後の脳回路変化を調べた。

### 【結果・考察】

## 1. 放射線照射による認知機能と新生ニューロン数の経時的変化

始めに、放射線照射による認知機能障害が起こる時期を特定するため、認知機能の経時的な変化を調べた。認知機能の評価は contextual fear conditioning test (CFC)を用いた。CFC とは電気ショックによる恐怖記憶を空間と関連付けて記憶しているのかを調べる試験である。6 週齢のラットの頭部のみ放射線(ガンマ線)を 10Gy 照射し (胴体部は鉛で保護)、照射 1 週、6 週、4 ヶ月後に CFC を行なった。その結果、放射線照射 6 週後で認知機能障害がみられ、4 ヶ月後には回復している事が分かった。新生ニューロン数を比較した結果でも、放射線照射 6 週間後だけで 6 週齢新生ニューロン数が減少する事が分かった。

これらの実験より、放射線照射 6 週間後では新生ニューロン数が減少し、認知機能障害が起こる事が観察された。さらに放射線照射 4 ヶ月後では新生ニューロン数の回復と、認知機能障害の回復が観察された。これらの結果より、放射線照射による認知機能障害は一時的な障害であり、時間経過と共に回復する事が分かった。また放射線照射 6 週間後に認知機能障害が見られた事は、4-6 週齢新生ニューロンが認知機能に関与しているという事から考えて、放射線照射による新生ニューロン数の減少により認知機能障害が引き起こされたという事が強く示唆された。

放射線照射 6 週間後の海馬ネットワークに着目し、新生ニューロンが存在する DG 領域とその投射先である CA3 領域のネットワークについて調べた。fMRI 実験は 4.7 tesla の MRI 装置を用い、 $\alpha$ -クロラロース麻酔下で行なった。海馬ネットワーク変化を調べるため、fMRI 技術の一つである resting state fMRI (rsfMRI)を行なった。rsfMRI は安静時における BOLD 信号の同調率を解析する事で領域間におけるコネクションの強さを調べる事が出来る。左側 DG とのコネクションを解析した結果、CA3 領域において DG とのコネクションが減少している事が分かった。

## 2. NMR 磁石を用いた超高磁場マウス fMRI による放射線照射後の海馬ネットワーク変化

上記の 4.7TMRI 装置を用いた fMRI 実験では、空間分解能の低さから、人において応用可能な結果を得るにはいたらなかった。海馬全体のネットワーク変化を評価する事ができれば、ヒトの fMRI 研究に応用する事ができる。このためには、高磁場 MRI による高分解能と高信号ノイズ比が必要となる。そこで汎用性が高く、磁場強度が高い *nuclear magnetic resonance (NMR)*磁石を利用する事を考えた。しかし、NMR 磁石ではサンプルを入れるための空間が極端に小さくなるため、ラットやマウスを入れる事は出来ない。そこでマウスを入れる事が出来る傾斜磁場コイルと radio frequency (RF)コイルを作製する事により、超高磁場 NMR 磁石 (14.1 tesla)を用いたマウス fMRI 実験が可能になるのではないかと考えた。マウスを入れる事が出来る傾斜磁場コイルと RF コイルを作製した事で、マウスの機能画像 (fMRI 解析に使用する MRI 画像)の撮像に

成功した。これにより、NMR 磁石を用いた超高磁場 MRI 装置を構築する事ができた。

次に構築した MRI 装置を用いて、ラット rsfMRI 実験結果 (Fig. 2C, D)の検証を行なった。当研究室の先行研究により、マウスにおいても放射線照射後 6 週間後だけで認知機能障害と 6 週齢新生ニューロン数の減少が観察された。そこで、マウスの実験においても放射線照射 6 週間後に着目し、新生ニューロン数が減少している時の海馬ネットワーク変化を rsfMRI により解析した。作製した傾斜磁場コイルの内径は 2.4 mm であるため、7-8 週齢までのマウスしか構築した MRI 装置内に入れる事が出来ない。そのため 1 週齢マウスの頭部に放射線 10Gy (2Gy×5)を照射し、その 6 週間後に rsfMRI を行なった。始めにラットの実験と同様に、認知機能障害と 6 週齢新生ニューロン数の減少が起きている事を確認した。次に右側 DG に region of interest (ROI)を作製し、右側 DG とのコネクションを解析した。その結果、放射線照射により CA3 において DG とのコネクションの減少が観察された。次に右側海馬前方に ROI を作製し、右側海馬前方とのコネクションを解析した結果、放射線照射により海馬後方において海馬前方とのコネクションの減少が観察された。さらに海馬前方と中隔野のネットワークが減少している事も分かった。中隔野は海馬と共に認知機能に関与している領域であり、また新生ニューロンの分化を調節している領域でもある。

#### 4. 頭部への放射線治療を受けたガン患者の海馬ネットワーク変化

頭部への放射線治療の認知機能への影響を調べるために、本研究で上咽頭ガン (nasopharyngeal carcinoma; NPC)患者の協力を得て、研究を行った。この放射線治療では放射線照射領域が海馬前方まで及ぶため、高頻度に認知機能障害が発生する。動物実験の結果から、海馬内と海馬/中隔野のネットワークに変化が起きるのではないかと推測される。そこで、NPC 患者をリクルートし、放射線治療後の海馬ネットワークの経時的な変化を解析した。

本研究は高雄医科大学 (台湾)との共同研究により行った。NPC 患者のリクルート、患者の治療、認知機能検査、MRI 撮像は高雄医科大学の共同研究者が行なった。著者は MRI 解析を担当した。本研究では、7 名の NPC 患者 (男性 5 名、女性 2 名、平均年齢は  $51.2\pm 3.4$  歳)の協力を得た。始めに、放射線治療前 (pre)に認知機能検査と MRI 撮像を行った。次に放射線治療 (1 日 2Gy の照射を 35 回)を約 7 週間かけて行った。NPC 患者の海馬には平均総量で  $22.4\pm 5.0$  Gy 照射されていると推定された。その後、始めの撮像から 3 ヶ月後 (3mo, 治療終了 1 ヶ月後)と 6 ヶ月後 (6mo, 治療終了 4 ヶ月後)に認知機能検査と MRI 撮像を行った。MRI 撮像は 3 tesla の MRI 装置を用いて rsfMRI を行った。

放射線照射範囲に海馬前方が含まれている事から、海馬前方と海馬後方のネットワークに着目して解析を行った。その結果、海馬前方と海馬後方のコネクションが pre に比べ 3mo で減少し、6mo では回復している事が分かった。また海馬と中隔野のネット

ワークも同様な変化を示した。

### **【結論】**

動物実験の結果から海馬内のネットワーク（DC-CA3 と海馬前後）と海馬外のネットワーク（海馬と中隔野）に変化が起きる事が分かった。この変化には新生ニューロンが関与している可能性が高いと思われる。また NPC 患者でも動物実験と同様な海馬のネットワーク変化が観察された。さらにこのネットワーク変化は回復する事が示唆された。これらの結果から、放射線照射により、新生ニューロンが減少し、これにより、海馬ネットワークが変化する。そして認知機能に影響が出るのではないかと推測される。この事から、新生ニューロンの減少を抑制・回復する事ができれば、放射線照射による副作用を軽減できるのではないかと考えられる。