

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Time-frequency analysis reveals an association between the specific nuclear magnetic resonance (NMR) signal properties of serum samples and arteriosclerotic lesion progression in a diabetes mouse model

時間周波数解析は糖尿病モデルマウスの動脈硬化病変と  
血清の NMR モードとの関連性を明らかにできる

日本医科大学大学院医学研究科 脳神経外科学分野

大学院生 由井 奏子

PLoS One. 2024 March 8.掲載

DOI: 10.1371/journal.pone.0299641

糖尿病は、持続的な高血糖による動脈硬化と、それに引き続く様々な心血管イベントを発症させる。臨床上、動脈硬化の進行程度を評価するには、神経放射線学的検査を含めた血液生化学的検査以外の方法を要する。このため、血液サンプルのみで動脈硬化病変の進行程度について評価できれば、臨床上有用であると考えられる。しかし、糖尿病とそれに引き続く動脈硬化病変には複雑な分子生物学的プロセスの関与があり、これら全ての物質を検出することは容易ではなく、現時点で糖尿病患者の血液試料から動脈硬化病変の検出や評価が可能な検査方法は確立されていない。NMR モード解析法は、血清の物理化学的特性を評価できる分析技術である。本論文において、申請者はこの解析法を用いて、糖尿病を背景とした動脈硬化病変の進行に関連した血液状態の変化を識別することが可能ではないかとの仮説を立案した。この仮説をもとに、高血糖の病態を早期より呈する実験マウスの系統を用いて動脈硬化モデル実験を行った。このマウスの血清の NMR モード解析を行い、血清検体から動脈硬化病変を検出し、その早期発見や進行評価の可能性を検証した。糖尿病モデルマウス (BKS.Cg db/db) をクリーン室下、通常の食餌で飼育し、各週齢 (10 週、14 週、18 週、22 週、26 週) で心臓血液を採取した。同時に HE 染色による組織学的検査のため頸動脈を採取した。血液は遠心分離後血清を採取し、NMR モード解析と生化学的検査を行った。BKS.Cg db/db は早期 (8 週齢) からの高血糖を認めており、病理所見では、18 週齢でアテローム斑を認める個体が半数以上観察され、22 週以降ではほぼすべての個体で高度な動脈硬化病変が認められた。BKS.Cg db/db の血清 FID データから算出されたスペクトログラムデータを用いて主成分分析 : principal component analysis (PCA)法を行ったところ、スコアプロット上で 10 週齢と 14 週齢群および 22 週齢と 26 週齢群は、主成分 1 (PC-1) のスコア値の正負で大別される領域に、それぞれクラスター化して分布した。18 週群はばらつきが大きく、群としてのスコア値の類似性は認められなかったが、10 および 14 週群と 22 および 26 週群に近い領域に分布する 2 群の存在を認めた。これらは多少異なるが近似した NMR モードを有していると仮定し、10 および 14 週齢群とこの 2 群に近いスコア値を示した。18 週齢の個体群をひとつのグループとし、22 および 26 週群とこの 2 群に近いスコア値を示した 18 週齢の個体群を別のひとつのグループを仮定して部分的最小二乗回帰分析 : partial least square discriminant analysis (PLS-DA)法を行ったところ、両者は正負のことなるスコア値をもつグループとしてクリアに分類された。本研究の結果より、持続的な高血糖を示すマウスの血清の NMR モード特性は、動脈硬化病変と関連性を持つ可能性が示唆された。

第 2 次審査では、病理学的評価方法の選択と今後の課題、他種の糖尿病マウスを用いた場合の影響、そしてスタチンや、糖尿病薬投与の検査結果への影響などに関して質疑がなされ、それぞれに対して的確な回答が得られた。

本研究は、患者血清検査を用いた、動脈硬化とその進行程度を検出する可能性が見込まれ、将来的な臨床的応用も認められる基礎研究と結論された。以上より、本論文は学位論文として価値のあるものと認定した。