

【研究紹介】

頭蓋内の脆弱性評価と死因究明

Evaluation of intracranial fragility for the cause of death investigation

金沢大学医薬保健研究域医学系法医学
塚 正 彦

はじめに

法医学の性質及び指向は、時代の変遷に伴い変化を示してきた。近年では特に、従来の「医と法の無数の接点において各々医学上の普遍的理論に立脚して社会の安定に寄与する学問」という位置付けに止まらず、社会の要請により予防医学的貢献をも求められている。時代背景のひとつに、平成24年死因究明に関する法整備がなされ、それと連動した法医解剖数の増加がある。倍増した法医解剖事案に、以前から新聞紙面等で目にする外因死が一定数含まれる一方で、外因が作用して死に至る過程で、内因即ち疾病が関与する事案にしばしば遭遇する。具体的には精神疾患との深い関わりで自殺がみられるように、てんかんや心血管障害が交通事故を誘発する等の事例が顕在化し始めたため、昨今外因死との結びつきが深い疾病の解析が喫緊の課題である。内因死のうち発症から死亡するまでが24時間以内と短い場合は、内因性急死例として臨床で扱われる部分もあるが、a) 経過が長く外因が介入しやすい場合やb) 闘病または死戦期の前後に明らかな外因が加わっている場合には、異状死体として届け出される事が比較的多い。そこで、ここ数年法医解剖された異状死体に対して上記a)b)を「内因関連死」例と定義して純粋な内因死例と合わせると、その数は実に過半数を占める。私共は、外因死と間違われるなど結びつきが深い心大血管を素材に血管組織脆弱性をキーワードに行ってきた研究に加えて、今後新たに臓器としての脳を重畳させて頭蓋内を対象とした脆弱性を評価し、病態生理的解析及び予防医学の一助としたいと考えている。

1. 血管壁脆弱性について：組織脆弱化におけるMMP活性に着目して

研究代表者の塚は、大学院時代の動脈粥状硬化症を対象とした研究¹⁾に始まり、循環器疾患では資料の血管壁組織を冠動脈及び脳動脈に移し、悪性腫瘍細胞の脈管侵襲については原発巣と転位巣の血管壁破綻を管腔側及び外膜側の両極から解析してきた^{2,3)}。その際に着目した分子種は、中心に亜鉛イオンを配し中性域で働くカルシウム依存性のプロテアーゼであるマトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinase 以下MMP)、特にゼラチナーゼA(MMP-2)及びB(MMP-9)である。

1) マクロファージ研究：成人の動脈粥状硬化巣の病理組織学的所見でみられる泡沫細胞はMMP産生を介して粥腫の形成と破綻に関与するが、我々が経験した事例で、異状死として届け出された川崎病女児の冠動脈瘤にも一部同様の所見が認められた(冠動脈瘤を有する8歳女児川崎病突然死の一例：Medical Research Training学生岡田真治、第105回日本病理学会学生発表優秀賞)。川崎病の自然経過で急性心筋梗塞が直接死因となり死亡した女児の例は稀少であり、泡沫化マクロファージのM1/M2分布等を指標に現在成人例多数との比較検討を進めている。

2) 血栓溶解研究：ゼラチナーゼA及びBはプロ酵素として産生細胞から分泌された後、細胞外で他の酵素によるプロペプチド部位切断で活性化を受けるが、線溶系分子プラスミンもMMP-9を切断し活性化させる。血管内腔側組織の脆弱性を高める要素に壁在血栓が拳がり動脈硬化巣で新規の方法 *in situ* zymographyで示した⁴⁾他、腫瘍細胞がextravasationする際に線溶系を利用していることを証明した⁵⁾。

3) 未破裂微小動脈瘤研究：平成26年度より学術研究助成基金助成金(基盤研究(C))の助成を受けて脳脊髄液中即ち血管壁外膜側の脳動脈瘤形成要素を管腔側内圧(血圧)以外から検索するプロジェクトを立ち上げた。

2. 脳脊髄液の解析：血管壁組織脆弱性から脳臓器脆弱性への架け橋

ヒト脳脊髄液は成人で一日500 mL程度産生され、頭蓋脊髄腔内を常時約150 mLで満たして外界からの刺激を緩衝しつつ、中枢神経の環境を外側から整えている。また、血液脳関門は実質的に血液脳脊髄液関門であることも重要な事実である。手術や穿刺では血液を混入することなく大量に採取することは困難であるが、我々の法医解剖では鑑定結果に反映させるべく採取技術を高め、血液混入のない清潔な状態で3~5箇所に取り分けて、ヒト1体当たり総量10 mLの回収を可能とした。

脳脊髄液の検査項目について、代表的な成書(臨床検査法提要、2015年改訂第34版、金原出版)では10数項目のみが記載されているが、「細胞数」という一項目では「0~5/μL」とあり、生理的にどのような細胞、サイトカイン等分子が働いて正常を保つかを含め詳細は不明であ

る。我々は通常の検査項目に加えて、ゼラチナーゼ活性を検出することに成功している(図1)。これは脳血管のネガティブリモデリングともいえる動脈瘤形成について外膜側からの血管壁組織脆弱性への関与を示唆しており、さらに次項で述べる血管透過性にも、深く関係しているものと思われる。

3. 脳血管組織脆弱性から脳を対象にした臓器脆弱性へ

1) 脳表面からみた浮腫性変化の評価

オートプシーイメージングは法医診断の補助的手段として確立されつつある。我々は産業技術総合研究所及び福井大学との共同研究で、第三の画像解析法を検討中である。近赤外イメージングは970~1,600 nmの水吸収域波長に着目し、水と油の区別に特化した新規デバイスで、MRI T2 強調画像に似た画像が得られることが予想されるため、出血及び炎症に基づく浮腫性変化を始めとした各種病変の所見の検証に有効である。今後数年をかけて近赤外イメージングを現場に応用し、法医診断の精度向上に努めたいと考えている。

2) 血管壁透過性~血液脳関門及び溺死に纏わるプランクトン検査

法医実務の伝統的な溺死診断で、臓器からの珪藻プランクトン検出が溺水の自主的吸引の証拠とされているが、検査法の原理である血管透過性の亢進には興味深い現象が認められる⁶⁾。血管内からのa) 滲出b) 小型珪藻プランクトンの漏出c) 出血という段階を持ったスペクトラムが死に至る過程で如何にしてもたらされるのか、また血液脳関門は実質的に血液脳脊髄液関門であるという事実に基づき、その関門を調節する分子種の同定を脳脊髄液側から行うことにより、新しい事実が発見される可能性がある。

4. 神経損傷のマーカー検索:再生医療の時代を迎えて

再生医療は神経領域でも実用化が進み、例えば外傷性脳損傷の回復に、細胞医薬品として加工された骨髄由来幹細胞の臨床試験が2016年東京大学病院で始まる(8月

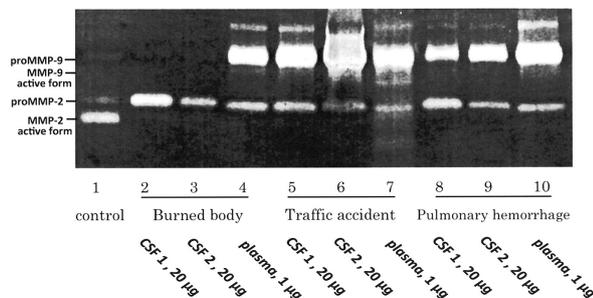


図1. 異状死体から採取した脳脊髄液及び血清のザイモグラム。0.1%ゼラチン基質を用いたザイモグラフィーにおいて、脳脊髄液(CSF)及び血清からMMP-2(プロ酵素, 活性化型)及びMMP-9(プロ酵素, 活性化型)が発見された。CSF1及びCSF2は、場所を決めて各々の異状死事例(向かって左から焼死, 交通事故死及び急性肺出血)毎に頭蓋内の定点から採取された脳脊髄液である。

14日付毎日新聞)。外傷性脳損傷と同様に、中枢神経系退行性病変においても早期診断・早期治療が必須であるが、そのためにも神経組織破壊のマーカー検出及び同定が急務といえる。糖鎖生物学的分子種や我々が研究を続けるプロテアーゼ活性のうちから候補が挙がり、今後深く研究されるべき領域と考える。

5. 研究及び死因究明の展望

以上より、脳脊髄液の詳細な解析を通して頭蓋内の未知の病態生理が解明される場合、そのインパクトは大きい。個々の外因及び内因毎に発現や濃度が異なるような検査可能な成分が明らかになれば、少なくとも法医実務への還元が期待される。一方、2015年からテニユアトラック武市敏明助教を迎え、動物実験で覚せい剤投与時の脳神経細胞における小胞体ストレスの解析を進めている。その対象をヒト脳実質の慢性疾患に広げる場合、病理組織学的観察を加えた病態解析への寄与が見込まれる。小胞体ストレス応答が頭蓋内脆弱性評価の一指標となり、事例毎の差を見いだす事は、法医実務において一つの死における内因と外因が占める割合に根拠を与えるものとして迎えられるであろう。

おわりに

死因究明に対する気運の高まりは時代の必然であり、その実務は石川県民さらには国民の健康と福祉への還元に向け、一層身近なものとして認識されることが望まれます。金沢大学法医学教室一同、不要な争いのない死因究明社会の実現に力を惜しまぬ所存です。今回の寄稿を機会に、金沢大学十全医学会の皆様方からの更なる御指導と御鞭撻を賜りたく存じ上げます。

文 献

- 1) 塚 正彦. ヒト大動脈粥状硬化におけるマトリックスメタロプロテアーゼの免疫組織化学および生化学的研究. *金沢大学十全医学会誌* 1996; 105:1-13.
- 2) Chang Y*, Zuka M*, et al. Secretion of Pleiotrophin Stimulates Breast Cancer Progression through Remodeling of the Tumor Microenvironment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 10888-10893. * Equal contribution.
- 3) Jain S, Zuka M, et al. Platelet Glycoprotein Ib α supports Experimental Lung Metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 9024-9028.
- 4) Zuka M, Okada Y, et al. Vascular Tissue Fragility Assessed by a New Double Stain Method. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003; 11: 78-84.
- 5) Weber MR*, Zuka M*, et al. Activated tumor cell integrin $\alpha v \beta 3$ cooperates with platelets to promote extravasation and metastasis from the blood stream. *Thromb Res* 2016; 140 Suppl 1: S27-36. * Equal contribution.
- 6) 美邊 暁, 七條美里, 他. 水中死体から採取する体腔液を用いたプランクトン検査. *法医学の実際と研究* 2014; 57: 59-67.