OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Learning Impairment and Microtubule-Associated Protein 2 Decrease in Gerbils Under Chronic Cerebral Hypoperfusion
Author(s)	工藤, 喬
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37209
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【33】

氏名・(本籍)	工藤(くどう) 喬(たかし)
学位の種類	医学博士
学位記番号	第9684号
学位授与の日付	平成3年3月26日
学位授与の要件	医学研究科 内科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Learning Impairment and Microtubule-Associated Protein 2 Decrease in Gerbils Under Chronic Cerebral Hypoperfusion (慢性脳血流低下モデル動物における行動・組織・細胞骨格蛋白の変化)
論文審査委員	(主査) 教授 白石 純三 (副査) 教授 西村 健 教授 祖父江憲治

論文内容の要旨

(目 的)

脳血管障害の病態を検討するために，いくつかの脳虚血モデルが考案されている。これまでのモデルは，一過性に脳血流を遮断するものであるが，臨床的には，脳動脈硬化など慢性的な脳循環不全に起因する脳障害が多く存在する。本研究は，一過性脳虚血ではなく慢性的に脳血流を低下させた動物モデルを作製し，これを用いて慢性脳血流低下の病態について，行動学的，神経病理学的及び細胞骨格蛋白を中心とした生化学的検討を加えた。

(方 法)

砂ネズミの一側総頚動脈をpentobarbital麻酔下に露出し，独自に開発したコイル状クリップを装着し，1週間の回復の後，他側総頚動脈にも同様にクリップを装着した。クリップ装着の前後に超音波血流ドップラー法にて，総頚動脈の血流速を計測し，狭窄を確認した。対照として偽手術を施した動物を用いた。①脳血流量測定：手術2ケ月後，水素クリアランス法を用いて頭頂葉皮質の脳血流量を計測した。②行動学的検討：手術2ケ月後，自動動物観察装置ＯＵＣＥＭ－86を用いて，受動的回避課題を与え，学習能力について検討した。即ち，装置内の床全面に50mAの電流を通電し，中央に絶縁された板(非ショック領域)を置き，動物を入れて，5分間行動を観察した。総運動量（ＴＬＡ）の測定と同時に，非ショック領域滞在時間（ＮＳＴ）の推移を学習の指標として評価し，解析した。③神経病理学的検討：手術3ケ月後，還流固定を行い，その脳組織標本を作製（ＨＥ染色，髄鞘染色）し，光顕及び電顕にて観察した。④細胞骨格蛋白の検討：手術2ケ月の脳組織について，その水溶性分画を電気泳動法にて分析し，ＭＡＰ２（microtubule-associated protein 2），calspectin，clathrinなどの細胞骨格関連

蛋白量の変化を検討した。また，手術３ケ月後の脳について，抗ＭＰＡ２抗体，抗200Ｋ－neurofilament（200ＫＮＦ）抗体，抗ＧＦＡＰ（glial fibrillary acidic protein）抗体を用いたＡＢＣ法により免疫組織化学的に検討した。

（成　　績）

①局所脳血流量：手術２ケ月後の実験群の頭頂葉血流量は，対照群の約75％に有意に減少していた。②行動学的検討：ＴＬＡについては，両群間で有意な差が認められなかったが，対照群の％ＮＳＴは速やかに100％に近づくのに対し，実験群の％ＮＳＴの時間的増加速度は有意に低下していた。③神経病理学的検討：光顕観察では，脳室の拡大，皮質のひ薄化，白質の粗鬆化等が特徴的な変化として認められた。電顕観察では，グリア線維の増生，樹状突起の膨化及び軸索の変性などが観察された。④細胞骨格蛋白の検討：電気泳動による分析の結果，実験群では皮質，線条体のＭＡＰ２が有意に減少していた。抗ＭＡＰ２抗体による免疫染色では，対照群の皮質の樹状突起は明瞭に染め出されるのに対し，実験群ではその染色性が低下している部位を認めた。抗200ＫＮＦ抗体による免疫染色では，実験群の視床において染色性が増加している部位を認めた。抗ＧＦＡＰ抗体による免疫染色では，実験群の脳各部位でその染色性が増加している部位が認められ，皮質では表層の血管を中心に抗ＧＦＡＰ抗体により陽性に染色される星状膠細胞の集塊が観察された。

（総　　括）

①コイル状クリップを考案し，慢性脳血流低下モデルを作製した。②このモデル動物は運動量には変化がなかったが，学習の獲得課程に障害が認められた。③このモデル動物では一過性脳虚血動物と異なる組織学的変化が認められた。④一過性脳虚血動物と同様，ＭＡＰ２が減少していた。⑤抗ＭＡＰ２抗体及び抗200 ＫＮＦ抗体による免疫組織化学の染色性の変化から，樹状突起及び軸索の障害が神経細胞障害の基礎として存在することが推察された。⑥慢性脳血流低下における星状膠細胞の関与が示された。⑦以上より，コイル状クリップを総頚動脈に装着した砂ネズミは，慢性脳血流低下状態の病態研究や治療法開発に有用なモデル動物である可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

脳血管障害の病態に関するこれまでの脳虚血モデルは，一過性に脳血流を遮断するものであり，慢性的な脳循環不全状態の研究には新しいモデル動物の開発が必要である。本研究は，砂ネズミの総頚動脈に独自に開発したコイル状クリップを装着することにより，慢性脳血流低下モデル動物を作製し，その学習獲得過程の障害と一過性脳虚血とは異なった多様な組織障害を証明したものである。

慢性脳血流低下状態が神経細胞に及ぼす影響について，このモデルを用い，マイクロチュブル付随蛋白（ＭＡＰ２），ニューロフィラメント200Ｋ蛋白，グリア線維酸性蛋白の変化について免疫組織化学的手法などを用いて検討したところ，組織障害があまり明かでない部分においてもこれらの脂肪骨格蛋白が変化しており，慢性脳血流低下状態は樹状突起，軸索，星状膠細胞それぞれに影響を与え，それらの

変化が神経細胞障害の基礎として存在することが示唆された。

以上により，コイル状クリップを総頚動脈に装着した砂ネズミは，慢性脳血流低下状態の病態研究や治療法開発に有用な動物モデルとしてその意義は大であり，本研究は学位の授与に値すると考える。