

Title	脳幹部神経細胞の虚血に対する選択的脆弱性：新しい砂ネズミ後脳虚血モデルの確立を通して
Author(s)	秦, 龍二
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38134">https://hdl.handle.net/11094/38134</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	はた 秦 りゅう 龍 じ 二
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 10663 号
学位授与年月日	平成5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学位論文名	脳幹部神経細胞の虚血に対する選択的脆弱性 — 新しい砂ネズミ後脳虚血モデルの確立を通して —
論文審査委員	(主査) 教授 西村 恒彦 (副査) 教授 鎌田 武信 教授 松永 享

### 論文内容の要旨

#### (目的)

虚血性脳血管障害の病態生理の解明や新しい治療法の確立の為に、適当な虚血モデルを用いた基礎的検討が欠かせない。そのため各種の脳虚血モデルが作成され、神経細胞の選択的脆弱性をはじめとした脳虚血病態の究明や機能画像診断の確立に先立つ病態時のトレーサ・カイネティクスの検討などに用いられてきた。しかしながらこれらのほとんどは前脳部の虚血モデルであり、後脳部に関してはいくつかのモデルが報告されてはいるものの、虚血作成手技上の困難性などのため充分には検討されていないのが現状である。脳幹部には血圧・呼吸中枢といった生命維持に不可欠な中枢が集まっており、同部での虚血に対する選択的脆弱性を検討することは、臨床における“脳死”問題とも密接に関連し重要と考えられる。本研究では、後脳領域に重度の虚血を再現良く作成し得る新しい虚血モデルを確立し、虚血早期病変を鋭敏に検索可能な抗微小管結合蛋白2抗体を用いた免疫組織化学的手法により後脳全領域について虚血に対する選択的脆弱性を示す部位を検索した。

#### (方法ならびに成績)

##### 1. 後脳虚血モデルの確立

##### 1-1. 後脳虚血モデルの作成方法と生理学的変化

体重60~80gの成熟砂ネズミを対象とした。ケタミン麻酔下に、椎骨の横突起に入り込む位置で椎骨動脈を露出させ糸を掛けた。翌日軽エーテル麻酔下で経口挿管を行ない、椎骨動脈に掛けた糸に5gの錘を釣り下げて両側椎骨動脈を同時に閉塞させた。5分間及び30分間閉塞させた後再灌流させた2群(各々n=6)に関して呼吸・血圧・心拍数、神経症状、聴覚脳幹誘発電位(BAEP)の変化を調べた。その結果、後脳虚血により典型的な中枢神経虚血反応が出現した。即ち両側椎骨動脈閉塞後10秒目より急速な平均動脈血圧の上昇と心拍数の減少が見られ、閉塞後30秒から60秒の間に全例で無呼吸が出現し以後調節呼吸を必要とした。自発呼吸停止後動物は無反応となり姿勢反射や角膜反射も消失した。5分虚血群では、再灌流後5分以内に自発呼吸が再開し15分目には人工呼吸器からも離脱し1ヶ月以上の長期生存が全例で可能であったが、30分虚血群では一時的に自発呼吸が再開するものの人工呼吸器から離脱すると、4時間以内に呼吸不全で全例死亡した。BAEPに関しては、虚血前にはI~IV波までの波形を明瞭に検出できるが、両側椎骨動脈閉塞後3分以内に全波形が消失した。5分虚血群では再灌流後1分の時点でBAEPのI~IV波はすべてが再出現するが、各波の潜時は全例で延長した。この変化は再開後10分目には虚血前値に復した。

一方、30分虚血群では完全回復はみられなかった。

## 1-2. 脳血流変化の定量

両側椎骨動脈閉塞前後での脳血流量変化を定量的に測定するため、桜田らの方法に従い<sup>14</sup>C-iodoantipyrineを用いた autoradiography 法による局所脳血流量測定を虚血前（非虚血偽手術群）と虚血5分の時点（虚血群）で各々5匹づつ実施した。その結果非虚血偽手術群では後脳部の局所脳血流量に明らかな部位差が観察され、動眼神経核や前庭神経核、深部小脳核群は高血流領域を形成していた。一方、虚血群における血流低下領域は、間脳部では視床の内側部を中心に認められ、中脳の上丘レベルでは動眼神経核を含む被蓋内側部で、また下丘レベルでは下丘核を除く全領域で観察された。さらに下位の小脳・橋・延髄では脳血流量は全例で5 ml/100 g/min以下であった。従って本虚血モデルでは両側椎骨動脈閉塞後早期より後脳部に、均等かつ重度の虚血を再現良く作成し得ることが明らかとなった。

## 2. 脳幹部神経細胞での選択的脆弱性の検索

非虚血偽手術例4匹と両側椎骨動脈閉塞後5, 10, 15, 30分目に各々4匹づつ断頭屠殺し、直ちに脳を摘出し、固定・包埋を行い、厚さ5 $\mu$ で連続切片を作成し、200 $\mu$ 毎にウサギ抗微小管結合蛋白2（MAP2）抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。その結果均等かつ重度の虚血に陥った後脳領域でも虚血に対する脆弱性に部位差があり、特に外側前庭神経核・小脳中位核が虚血に対して最も脆弱であり、ついで上オリブ核・台形体核・外側毛帯核・動眼神経核などが脆弱であった。一方、脳幹部でも弧束核、延髄腹外側部などの呼吸循環調節に関わる領域は虚血に対してより抵抗性があることも明らかとなった。

（総括）

- (1) 新しい砂ネズミ後脳虚血モデルを確立した。このモデルは以下のような特徴を持ち、きわめて有用と考えられた。
  - ・均等かつ重度の虚血を後脳領域に再現良く作成し得る。
  - ・虚血作成に際して開頭手術を要しない。
  - ・一過性後脳虚血による影響を検討し得る。
  - ・呼吸中枢への影響を呼吸の停止・再開として把握可能である。
  - ・虚血性障害の可逆性をBAEPなどの電気生理的モニターにより測定可能である。
- (2) 虚血早期の神経病変を鋭敏に検索可能な抗MAP2抗体を用いた免疫組織化学的検討により、後脳全領域について虚血に対する選択的脆弱性を示す部位を明らかとし得た。

## 論文審査の結果の要旨

機能画像診断の確立に先立つトレーサ・カイネティクスの検討などに各種の脳虚血モデルが用いられているが、これらのほとんどは前脳部の虚血モデルであり、後脳部に関してはいくつかのモデルが報告されているものの、虚血作成手技上の困難性などのため充分には検討されていないのが現状である。臨床的にも脳幹部には血圧・呼吸中枢といった生命維持に不可欠な中枢が集まっており、同部での虚血に対する選択的脆弱性を検討することは、きわめて重要と考えられる。本研究では、対象として内頸動脈系と椎骨脳底動脈系との間に交通がない砂ネズミを用い、両側椎骨動脈を頭蓋外にて閉塞させることで後脳領域に均等で重度の虚血を再現良く作成し得る新しい虚血モデルの確立に成功している。更に虚血早期病変を鋭敏に検索可能な抗微小管結合蛋白2抗体を用いた免疫組織化学的手法により後脳全領域について虚血に対する選択的脆弱性を示す部位（前庭神経核など）や抵抗性を示す部位（呼吸循環調節に関わる領域など）を明らかにしている。これらの選択的脆弱性に関する研究結果は、椎骨脳底動脈系の血流障害に際して中枢性めまいが高頻度に見られることなどの脳幹虚血に関する臨床的事実とも良く一致している。以上、本研究はこれまで十分な研究がなされていなかった脳幹部の虚血病態の研究を大きく押し進める契機になるものと考えられ、十分に学位に値するものといえる。