The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Early Blood-Brain Barrier Disruption After High-Dose Single-Fraction Irradiation in Rats
Author(s)	中田, 博幸
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40447
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 43 】

氏　　名	中　田　博　幸（なかた ひろゆき）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	第　12702　号
学位授与年月日	平成 8 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Early Blood-Brain Barrier Disruption After High-Dose Single-Fraction Irradiation in Rats （高線量単回放射線照射によるラット血液脳関門への急性期作用に関する研究）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授 早川　徹 （副査） 教 授 井上 俊彦　教 授 青笹 克之

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

近年いわゆる radiosurgery として脳腫瘍や脳血管性病変に対する高線量単回局所照射が行われるようになったが，このような放射線射照の脳組織への影響については正確な知見に乏しい。とくに臨床的には脳浮腫によると思われる症状がみられることが多いが，従来の報告では血液脳関門の変化はとらえられていない。本研究では血液脳関門の変化を，従来の外因性 tracer に代え，より鋭敏にとらえられる内因性の tracer としての血清アルブミンに注目し，その血管外漏出を検討した。

【方法】

放射線照射

体重150 g のラットの眼，鼻を鉛板にて遮蔽し，ネンブタール麻酔下に全脳X線照射を行った。照射には深部治療用X線装置を用い，直径 3 cm の cone および厚さ 2 mm のアルミニュウム・フィルターを使用した。照射条件は100 kVp，15 mA，線量率は753 R/min である。また同一個体で照射に影響を検討するため左右の比較のため一部のラットでは，頭部右半分を遮蔽して放射線照射を行なった。

血清アルブミンの血管外漏出の検討

抗ラット血清アルブミン抗体を用いた免疫組織学的方法にて行なった。20，40，80 Gy の全脳照射後，1，3，6，14，30日目にネンブタール麻酔を行い，4％パラホルムアルデハイドにて経心室的潅流固定を行なった。ただし80 Gy ラットでは，7 日前後で死亡するため 6 日目までの観察にとどめた。脳を摘出しさらに24時間浸潤固定後，パラフィン包埋し，厚さ 6 μ の冠状切片を作製した。

組織切片はキシレンで脱パラフィン後，0.3％過酸化水素加メタノールで15分間処理し，0.8％塩化ナトリウム加50 mM Tris 緩衝液（pH 7.6，Tris buffer）により洗浄した。ついで0.2％正常ウサギ血清により室温下30分間，つづいて抗ラットアルブミン抗体（200倍希釈）により 4 ℃一昼夜，ビオチン化抗ウサギ IgG により室温下30分間，avidin biotin peroxidase-complex により30分間，0.01％過酸化水素および0.05％ diaminobenzidine tetrahydrocholide 加

Tris buffer により8分間各々反応させ，水洗後バルサム封入した。

血液脳関門の定量的検討

^{14}C-AIB を用いた autoradiograghy を行なった。20，80 Gy の全脳照射後，1，3，6日目にケタミン麻酔下に，20 μCi の ^{14}C-AIB を静注し，2分ごとに動脈血を採血し10分後に脳を摘出，急速凍結した。60 μ の連続冠状切片を作製し，^{14}C-methyl-methacrylate standard plate とともにX線フィルムにて現像した。脳各部位の光線透過度を測定し，blood-brain trasfer constant を計算した。

【成績】

正常脳組織では血清アルブミンの漏出は，脈絡叢，灰白結節，最後野において認め，その他の部位においては認めなかった。これらの組織では神経細胞やグリア細胞内および neuropil に血清アルブミン反応を認めたが，細胞内により強い反応を認めた。

20および40Gy 照射脳ので肉眼的観察では，照射後1日目よりアルブミンの血管外漏出が認められ，3日目にはさらに強度となり，その後徐々に減少し，30日目に消失した。80 Gy 照射脳では1日目より6日目まで血管外漏出は増強しつづけた。

20および40 Gy 照射脳の顕微鏡的観察では，アルブミンの血管外漏出は灰白質および白質ともに認められたが，灰白質で強度であり，neuropil にのみ存在した。しかし80 Gy 照射脳では neuropil のみならずグリア細胞や神経細胞内にも漏出アルブミンを認めた。^{14}C-AIB をもちいた定量的オートラジオグラフィ法により測定した tarnsfer constant は20および80Gy 照射脳ともに正常脳との差を認めなかった。

また頭部右半分を鉛板にて遮蔽して照射した脳では，照射部位のみにアルブミンの漏出を認めたが，オートラジオグラフィ法では差異を認めなかった。

【総括】

1）20Gy 以上の放射線単回照射により，照射後早期より血液脳関門の破綻が生じることが明らかとなった。

2）20および40Gy ではその変化は可逆的であり1ケ月以内に消失した。その変化は定量的オートラジオグラフィ法では捉えることはできずごく軽微な変化と考えられる。

3）血液脳関門への影響は，神経症状，脳浮腫の出現はもとより，この時期に投与された薬剤移行にも影響をあたえる可能性が考えられる。

論文審査の結果の要旨

近年脳神経外科領域では brachtherapy や，Leksell gamma unit または linear accelerator を用いた radiosurgery など局所高線量単回放射線照射が脚光を浴びてきている。とくに radiosurgery は極めて正確に目的の部位に限局した照射ができるため，良性脳腫瘍や脳動静脈奇形などの治療に適用疾患が広がりつつある。しかし高線量単回照射による生体組織への作用は，従来の小線量分割照射とは異なったものと考えられており，脳組織への障害についても充分明らかでない。とくに血液脳関門に対す影響は脳組織に特異的であり，また急性期の障害として最も重要な問題である。本研究では免疫組織化学的手法を用いて，血清アルブミンを内因性トレーサーとすることにより放射線照射急性期における血液脳関門の破綻を証明したものである。従来の血液脳関門に関する研究は，ほとんどが外因性トレーサーを用いたものであり，このような破綻を明らかにすることができなかった。本研究で内因性トレーサーを用いたことは独創的であり，これにより初めて高線量単回照射が血液脳関門に与える影響が明らかにされたものである。また比較のため外因性トレーサーである ^{14}C-AIB を用いた定量的オートラジオグラフィー法もおこなっているが，その結果は外因性トレーサーに対する内因性トレーサーの有用性を明確にしたものである。本研究で明らかとなった放射線照射急性期の血液脳関門の破綻は，現在臨床応用の始まった高線量単回照射法の問題点を明らかにしており，学位の授与に値すると考えられる。