

Title	C57BL/6 strain is most susceptible to cerebral ischemia following bilateral common carotid occlusion among seven mouse strain : selective neuronal death in the murine transient forebrain ischemia
Author(s)	楊, 功明
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41633
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	楊 功 明
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 14489 号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学位論文名	C57BL/6 strain is most susceptible to cerebral ischemia following bilateral common carotid occlusion among seven mouse strain : selective neuronal death in the murine transient fore-brain ischemia (C57BL/6系統マウスを用いた再現性良好なマウス一過性前脳虚血モデルの確立)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 柳原 武彦 教授 吉峰 俊樹

論文内容の要旨

【目的】

虚血性脳血管障害の病態生理の特徴の一つに、神経細胞がなぜ虚血に最も脆弱なのか、という選択的脆弱性が挙げられる。神経細胞の虚血に対する選択的脆弱性を検討するモデルとして、砂ネズミやラットでは前脳領域全体に重度の虚血を短期間負荷したのち血流再開通する一過性重度前脳虚血モデルが確立されている。近年、各種の遺伝子変異マウスが作成され各種病態時における個々の遺伝子産物の関与が明らかにされつつある。脳虚血病態に関しても、遺伝子変異マウスを用いた多くの研究が実施されるようになってきているが、その大部分は局所脳虚血モデルを用いて行われている。脳虚血に伴う神経細胞の選択的脆弱性を遺伝子変異マウスで検討するには、マウスで再現性良好な一過性重度前脳虚血モデルが必要とされるが、これまでそのようなモデルはほとんど報告されていない。本研究では実験によく供されるマウス7系統を用いて、両側総頸動脈閉塞によりどの程度再現性よく前脳虚血を発症するかを、死亡率、神経症状、組織学的評価、血流低下率、脳底部ウイリス輪での頸動脈系と椎骨脳底動脈系の吻合程度の点から検討し、再現性良好なマウス一過性重度前脳虚血モデルを開発する事を目的とした。

【方法ならびに成績】

1. マウス7系統の両側総頸動脈永久閉塞による神経症状の発生頻度及び24時間死亡率

(方法) 代表的なマウス7系統C57BL/6, ICR, BALB/c, C3H, CBA, DBA/2, dd $\text{\textcircled{Y}}$ 各8匹ずつを用いた。雄性、8-16週齢、体重21-27gのものを対象とした。軽エーテル麻酔下に仰臥位に固定し頸部皮膚を正中切開、両側総頸動脈を剥離後、二重結紮し室温下に2時間後まで神経症状の観察を行った。神経症状としては意識障害(傾眠、体向反射消失、昏睡)、回旋現象、頸部捻転、痙攣の4項目をとりあげ、その評価は15分から120分までの間を行った。その後、24時間後に再度観察し死亡率の評価を行った。

(結果) 頸部捻転、痙攣といった重度の虚血症状がC57BL/6では30分までに、ICRやBALB/cでも120分までにはほぼ全例で観察された。これら3系統の24時間後の死亡率はほぼ100%であった。一方、C3H, CBA, dd $\text{\textcircled{Y}}$ では2時間後までの重度虚血症状発現頻度および24時間後の死亡率とも50%程度であった。DBA/2は一部の例で回旋現象、意識障害を認めるものの頸部捻転、痙攣を示す動物は少なく24時間後の死亡率も低かった。

2. マウス7系統の20分間両側総頸動脈閉塞、再灌流による虚血性神経細胞死の発生頻度-神経症状と組織学的病変

の対応を含めて—

(方法) 1と同様にマウスを軽エーテル麻酔下に両側総頸動脈を剥離し体温および側頭筋温を36-37°Cに保ったのち、クリップにより20分間閉塞した。クリップ後マウスを内部温度35°Cに保ったチャンバーに置き、神経症状を観察した。神経症状は上記の4項目について評価した。20分間のクリップ後血流を再開通し、1時間後まで動物を保温した。一週間後に動物を断頭し、取り出した脳を固定後パラフィン包埋し、作成したパラフィン切片をHE染色、ニッスル染色、抗微小管結合タンパク質2 (MAP2) 抗体を用いた免疫組織化学染色に供した。組織学的検索では虚血に脆弱とされる海馬と線条体を検索した。

(結果) 20分間の両側総頸動脈閉塞中の神経症状の発現は1と同様にC57BL/6で最も一定してみられた。C57BL/6では頸動脈閉塞後5分まで体向反射の消失がみられ、5-10分間にほとんどの動物で回旋現象、頸部捻転が発現し15-20分までの間に痙攣が観察された。なおクリップ閉塞中の死亡率はICRで8%、血流再開通から1週間後までの間の死亡率はC57BL/6で11%、ICRで33%であった。虚血性神経細胞死の発生頻度はC57BL/6の海馬、線条体では各々8例中6例と7例に認め、うち5例と6例は両側性であった。ICR、BALB/cでも8例中6例に海馬及び線条体に神経細胞死がみられたがいずれも一側性であった。C3H、CBA、ddY、DBA/2では8例中1-2例に細胞死を認めるのみであった。以上の結果からC57BL/6が両側総頸動脈閉塞により最も再現性良く虚血性神経症状が観察され、海馬、線条体での神経細胞死の発生頻度も他の系統に比べ高頻度に観察される事が明らかとなった。

3. マウス7系統の脳底部血管構築、特に頸動脈系と椎骨脳底動脈系の吻合の程度と両側総頸動脈閉塞による脳血流低下率

(方法) マウス7系統各5匹ずつをケタミン麻酔下に両側総頸動脈を1分間クリップし閉塞前後の脳血流量の変化を中大脳動脈灌流領域上の頭蓋骨表面においたレーザードブラ血流計にて計測した。その後深ネブタール麻酔下に開胸し左心室から生理食塩水にて血液を洗い流したのち、ゼラチン加墨汁を注入し脳を取り出し脳底部の血管構築を観察した。

(結果) 両側総頸動脈閉塞前後の脳血流量低下率はC57BL/6で最も大きく平均で91%ついでICRの84%、BALB/cの82%であった。C3H、CBA、ddY、DBA/2では70-80%の低下率であった。脳底部での頸動脈系と椎骨脳底動脈系の吻合に関してはC57BL/6では全例で左右のどちらかにもみ脳底動脈径の1/3未満の細い吻合を認めるのみであった。しかしICR、BALB/cを含む他の系統では個体間で吻合の程度にばらつきがみられ一定の傾向が得られなかった。

【総括】

1. マウス7系統のうち、C57BL/6が両側総頸動脈閉塞により神経症状、組織学的虚血病変、血流低下率の面から最も再現性良く前脳虚血を発生し、脳底部での頸動脈系と椎骨脳底動脈系との吻合の不全がその主因と考えられた。
2. C57BL/6系統を遺伝的背景にもつ遺伝子変異マウスでは両側総頸動脈閉塞による選択的神経細胞死の検討が可能であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

脳虚血に伴う神経細胞の選択的脆弱性を遺伝子変異マウスで検討するには、マウスで簡便かつ再現性良好な一過性重度前脳虚血モデルが必要とされるが、これまでそのようなモデルは報告されていない。本研究では実験によく用いられるマウス7系統を用いて、両側総頸動脈閉塞によりどの程度再現性よく前脳虚血を発症するかを、死亡率、神経症状、組織学的評価、血流低下率、脳底部ウィリス輪での頸動脈系と椎骨脳底動脈系の吻合程度の点から検討した。その結果マウス7系統のうち、C57BL/6が両側総頸動脈閉塞により神経症状、組織学的虚血病変、血流低下率の面から最も再現性良く前脳虚血を発生し、脳底部での頸動脈系と椎骨脳底動脈系との吻合の不全がその主因と考えられた。C57BL/6系統を遺伝的背景にもつ遺伝子変異マウスでは両側総頸動脈閉塞による選択的神経細胞死の検討が可能であると考えられた。本研究は、遺伝子変異マウスを用いて虚血に対する神経細胞の選択的脆弱性を今後検討していく上で重要な意義を有する論文であり、学位の授与に値すると判断される。