



Title	N-Acetylaspartate to total creatine ratio in the hippocampal CA1 sector after transient cerebral ischemia in gerbils : Influence of neuronal element, reactive gliosis and tissue atrophy
Author(s)	小仲, 邦
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45334
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

氏名	小仲 邦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 18102 号
学位授与年月日	平成 15 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	N-Acetylaspartate to total creatine ratio in the hippocampal CA1 sector after transient cerebral ischemia in gerbils : Influence of neuronal element, reactive gliosis and tissue atrophy (一過性脳虚血後砂ネズミ海馬 CA1 領域における N-Acetylaspartate/total creatine 比の変動の意義：神経細胞障害及び反応性グリオーシスの影響と脳組織萎縮との関連性)
論文審査委員	(主査) 教授 佐古田三郎 (副査) 教授 吉峰 俊樹 教授 内山 安男

論文内容の要旨

〔目的〕

近年、Magnetic Resonance Spectrography 法より求められる局所 N-Acetylaspartate (NAA) /total creatine (creatine + phosphocreatine) 比の低下が脳萎縮を起こす各種神経疾患における組織障害の指標として有用であることが報告されている。しかし、その低下の意義はまだ不明である。そこで本研究では脳の微少部位における代謝物質解析と組織学的变化の同時評価法を用いて、一過性脳虚血後の砂ネズミ海馬 CA1 領域における NAA/total Creatine (Cr) 比を追跡し、神経細胞及びグリア細胞群の動向と比較検討した。併せて脳組織萎縮の進行との関連性についても検討した。

〔方法ならびに成績〕

SPF 雄性砂ネズミ (50-80 g) を用い、エーテル麻酔下で両側総頸動脈結紮法にて 5 分間の前脳虚血後再灌流させ、7 日、1 ヶ月、6 ヶ月後及び control 群 (各群 5 匹) の各脳を液体窒素で凍結固定した。生化学的解析用に厚さ 20 μm の凍結切片を作成後、一晩凍結乾燥し、海馬 CA1 領域を実体顕微鏡下にて単離・秤量した。0.5 N 過塩素酸にて抽出、中和後高速液体クロマトグラフィーを用い、NAA、Cr、phosphocreatine (PCr) を測定し、NAA/total Cr 比を算出した。同時に作成した隣接する 10 μm の凍結切片は、抗 Microtubule-associated proteins (MAP) 抗体、抗 Glial fibrillary acidic protein (GFAP) 抗体、抗 2'3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNP) 抗体による免疫染色法及び peroxidase labeled isolectin-B₄ の組織化学法にて各々神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリアの動態を評価し各細胞密度を測定した。また海馬 CA1 領域の alveus と stratum lacunosum moleculare 間の最大径を測定することより海馬 CA1 領域の厚さを測定し、脳萎縮の指標とした。

1. 再灌流 7 日後生存神経細胞密度は control 群に比し既に著明に低下 ($p < 0.01$) し、その程度は 6 ヶ月まで不変であった。NAA 値は神経細胞障害の発生に一致して再灌流 7 日群で control 群に比し有意に低下 ($p < 0.01$) し、その

後 6 ヶ月まで変わらなかった。

2. Total Cr 値は再灌流 7 日群、再灌流 1 ヶ月群でコントロール群に比し低下 ($p < 0.05$) したが再灌流 6 ヶ月群では再灌流 1 ヶ月群に比し増加 ($p < 0.05$) した。PCr/Cr 比は全ての群で有意の変化は認めなかった。
3. NAA/total Cr 比は再灌流 7 日群、再灌流 1 ヶ月群でコントロール群に比し低下 ($p < 0.01$) したが、再灌流 6 ヶ月群では再灌流 1 ヶ月群に比しさらに低下 ($p < 0.05$) した。アストロサイトの細胞密度は血流再開後徐々に増加し、再灌流 6 ヶ月群で最大となり ($p < 0.01$)、形態上も肥大化した。Total Cr 値及び NAA/total Cr 比とアストロサイトの細胞密度には各々正及び負の良好な相関関係 ($p < 0.01$) を認めた。
4. マイクログリアは再灌流 7 日群で最も増加し、その後は漸減した。オリゴデンドロサイトはコントロール群と再灌流群で変化を認めなかった。
5. CA1 領域の厚さは再灌流 1 ヶ月群で有意に縮小 ($p < 0.05$) し、6 ヶ月群で最小 ($p < 0.01$) となった。

[総 括]

一過性前脳虚血モデルにおいて NAA 値は神経細胞障害の指標として長期の再灌流期間にわたり有用であると考えられた。一方で NAA/total Cr 比も神経細胞障害の指標となりうるが特に長期の再灌流後には反応性アストロサイトの動向を反映すると考えられた。また NAA 値、NAA/total Cr 比共に神経細胞障害の出現と同時に低下するがその後のグリオーシスの進展に伴い NAA/total Cr 比のみのさらなる低下と脳萎縮が発生すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本論文は神経細胞障害の評価として医療の臨床で頻用される Magnetic Resonance Spectroscopy で求められる N-Acetylaspartate/total Cr 比を実際に一過性脳虚血後再灌流 6 ヶ月後までの動物モデルを用いて高速液体クロマトグラフィー法により微量分析して求めたものである。また同時に組織学的評価の同時測定法を用いて神経細胞、アストロサイト、マイクログリア、オリゴデンドロサイトの経時的变化についても追跡し、脳組織の萎縮の経時的变化についても評価した。その結果、N-Acetylaspartate/total Cr 比は神経細胞障害に加え、再灌流後長期の期間においては反応性アストロサイトーシスを反映し、脳萎縮の発生以前より低下していることが判明し、今後の日常臨床において中枢神経疾患を評価する際に新たに考慮すべき有用な結論が示され、学位に値するものと考える。