Neuroprotective effects depend on the model of focal ischemia following middle cerebral artery occlusion

メタデータ	言語: Japanese
	出版者: 浜松医科大学
	公開日: 2014-10-29
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 高松, 宏幸
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1589

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第　３１２号	学位授与年月日	平成１１年１１月　５日
氏　　名	髙　松　宏　幸		
論文題目	Neuroprotective effects depend on the model of focal ischemia following middle cerebral artery occlusion (神経保護作用は中大脳動脈閉塞による局所虚血モデルの違いによって左右される)		

博士(医学)　高　松　宏　幸

論文題目

Neuroprotective effects depend on the model of focal ischemia following middle cerebral artery occlusion
(神経保護作用は中大脳動脈閉塞による局所虚血モデルの違いによって左右される)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

photochemically－induced thrombosisモデル(PITモデル)は、浜松医科大学薬理学教室で開発された実験的脳虚血モデルである。本研究では、PITモデルと、脳虚血モデルとして最も汎用されている熱凝固モデルを用いて、各種脳保護剤の有効性の比較検討と、両モデルの脳梗塞巣および脳浮腫形成の経時変化を比較検討することにより、PITモデルの薬理学的性質を検討した。

〔方法〕

ハロセン麻酔下に雄性Sprague－Dawleyラット(体重280－300g)の左中大脳動脈を経眼窩的に観察した。PITモデルでは、硬膜上から中大脳動脈本幹に緑色光(波長540nm)を照射すると共にローズベンガル(20mg／kg)を静脈内投与し、光増感反応にて血管内皮を傷害した。熱凝固モデルでは、硬膜を剥離後、中大脳動脈起始部を双極性凝固器により焼灼した。各種脳保護剤の有効性の検討時には、24時間後に脳を取り出し1％塩化トリフェニルテトラゾリウム液で染色し、脳梗塞サイズを計測した。梗塞巣形成の経時変化の検討時には、ホルマリンで脳を固定後、ヘマトキシリン－エオシン染色にて染色し、脳梗塞サイズを計測した。また、脳浮腫の測定は、脳摘出直後の湿重量と100℃で72時間乾燥後の乾燥重量から算出した。

脳保護剤として使用した薬剤は、NMDAレセプター拮抗剤であるMK－801、AMPAレセプター拮抗剤であるYM90K、カルシウムチャンネルブロッカーであるS－312－d、ラジカルスカベンジャーであるMCI－186とEPC－K1およびカルシニューリン阻害剤であるFK506の6剤である。

〔結果〕

今回使用した6剤の脳保護剤は、PITモデルにおいて、有効性が確認された。一方、熱凝固モデルにおいては、ラジカルスカベンジャーであるMCI－186およびEPC－K1は無効であった。両モデルでの経時的な梗塞巣の進展様式には差が見られなかったが、脳浮腫の経時的な形成様式には大きな違いがあった。つまり、PITモデルでは熱凝固モデルに比べて、虚血3時間後から脳水分含量が有意に増加しており、この差は24時間後においても確認された。

〔考察〕

今回の検討中の中で明らかとなったのは、PITモデルにおいてのみ、ラジカルスカベンジャーの有効性が確認できたことと、PITモデルでは脳浮腫の形成が熱凝固モデルに比べて、早期に起こり、その程度も大きいことである。虚血時に発生するラジカルは、それ自身、神経細胞に毒性を示す事が知られているが、血液脳関門を破綻させ、脳浮腫を助長させることも知られている。これらのことから、PITモデルでは病態形成にラジカルの関与が示唆される。一般的にラジカルの発生は、虚血再灌流時に再酸素化が起

こる際に、余剰な酸素を基質として発生することが知られている。今回の検討から、PITモデルでは、虚血約３時間後の早期から、中大脳動脈の末梢部位においては再灌流が生じている可能性が考えられる。この原因としては、血小板血栓によって閉塞した微小血管が、自然再開通することが考えられる。以上のことから、PITモデルにおける脳梗塞巣の進展には虚血３時間後以降の再灌流傷害が関与する可能性が示唆され、熱凝固モデルに無い特徴を有した実験的局所脳虚血モデルであると考える。

〔結論〕

PITモデルにおける脳梗塞巣の進展には、再灌流傷害が関与している点で熱凝固モデルと異なった性質を有している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者は浜松医科大学薬理学教室で開発された実験的脳虚血モデルであるphotochemically－induced thrombosisモデル(PITモデル)の薬理学的性質を明らかにするため、各種脳保護剤の有効性を指標として、永久閉塞の脳虚血モデルとして最も汎用されている熱凝固モデルと比較検討した。脳保護剤の有効性は、脳梗塞巣の範囲と脳浮腫の程度の経時変化により判定した。

ハロセン麻酔下に雄性Sprague－Dawleyラット(体重280－300g)の左中大脳動脈を経眼窩的に観察した。PITモデルでは、硬膜上から中大脳動脈本幹に緑色光(波長540nm)を照射すると共にローズベンガル(20mg／kg)を静脈内投与し、光増感反応にて血管内皮を傷害した。熱凝固モデルでは、硬膜を剥離後、中大脳動脈起始部を双極性凝固器により焼灼・閉塞・切断した。各種脳保護剤の有効性は24時間後に脳を摘出し、１％塩化トリフェニルテトラゾリウム液で染色の後、梗塞サイズを計測して検討した。梗塞巣形成の経時変化は、梗塞後３時間毎24時間後までの各時点で脳を摘出し、ホルマリン固定した後ヘマトキシリン－エオジン染色法で梗塞サイズを計測し検討した。また、脳浮腫の測定は、梗塞後３時間毎24時間後までの各時点で脳を摘出した直後の湿重量と100℃で72時間乾燥後の乾燥重量から算出した。

NMDAレセプター拮抗剤であるMK－801、AMPAレセプター拮抗剤であるYM90K、L型カルシウムチャンネルブロッカーであるS－312－d、ハイドキシルラジカルスカベンチャーであるMCI－186とEPC－K１およびカルシニューリン阻害剤であるFK506の６剤を脳保護剤として使用した。これらすべての薬剤はPITモデルにおいて有効性が確認された。一方、熱凝固モデルにおいては、MCI－186およびEPC－K１は無効であった。両モデルでの経時的な梗塞巣の進展様式には差が見られなかった。しかし、脳浮腫の形成では大きな違いがあり、PITモデルでは熱凝固モデルに比べて脳水分含量が有意に増加しており、この差は虚血３時間後から24時間後まで確認された。

以上からPITモデルにおいてのみ、ラジカルスカベンジャーが有効であり、熱凝固モデルに比べて、脳浮腫の形成が早期に起こり、その程度も大きいことが明らかとなった。虚血時に発生するラジカルは、それ自身、神経細胞に毒性を示すのみならず血液脳関門を破綻させ、脳浮腫を助長させることが知られているので、PITモデルではその病態にラジカルが関与していると思われた。一般的に虚血再灌流時に再酸素化が起こる際に余剰な酸素を基質としてラジカルが発生することが知られている。したがって、PITモデルでは、虚血約３時間後の早期からある程度の再灌流が生じている可能性があり、原因としては、血小板血栓によって閉塞した微小血管の自然再開通が考えられた。以上のことからPITモデルにおける脳

梗塞巣の進展には、熱凝固モデルにみられる特徴以外に再灌流傷害も関与している可能性が示唆された。すなわちPITモデルは永久閉塞モデルと再灌流モデルとの両特性を併せ持つ実験的局所脳虚血モデルではないかと考えられた。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

1）熱凝固モデルでも凝固の加減によりPITモデルに近いモデルができないか
2）なぜ、線条体の梗塞巣に対して脳保護剤は効果が無かったのか
3）塩化トリフェルテトラゾリウムによる染色でなぜ梗塞巣が判るのか
4）脳浮腫はラジカルによって起こるのか
5）脳保護剤とくにラジカルスカベンジャーは脳浮腫を減少させたのか
6）熱凝固モデルとPITモデルとでは脳浮腫の成因に違いがあるのか
7）PITモデルの梗塞巣はペナンブラとコアとでどの様な違いがみられたか
8）PITモデルにおいて中大脳動脈本幹に再開通が起こっても末梢の一部は閉塞したままなのか
9）血栓溶解剤はPITモデルと熱凝固モデルで効果に差があると考えられるか
10）FK506が脳虚血に対して保護的に動くメカニズムは何か
11）NMDA受容体拮抗剤は永久閉塞モデルで保護効果があるのに再灌流モデルでなぜ無効なのか
12）虚血再灌流モデルとPITモデルではその病態にどの様な違いがあると思われるか
13）熱凝固モデルとPITモデル双方において結果に個体差は認められたか
14）ローズベンガルの血中濃度はどれくらいか、また、それは投与した薬剤に影響を与えないのか
15）PITモデルは臨床的に脳虚血のうちのどの病態に最も近いモデルと考えられるか
16）実験的脳虚血モデルとしてのPITモデルの欠点は何か

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者　主査　福田敦夫
副査　佐藤康二　副査　浦野哲盟