

令和元年6月28日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10713

研究課題名(和文) ラット慢性進行性局所脳虚血モデルの新規作成と酢酸PETを用いたグリア代謝

研究課題名(英文) Glial metabolism evaluated by acetate positron emission computed tomography in chronic progressive brain ischemia model in rats

研究代表者

菊田 健一郎 (Kikuta, Kenichiro)

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号：90332725

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：10-12週齢の雄ラットを1.5%イソフルレン吸入麻酔下に、Pulsinelliの4 vessel occlusion (Ann Neurol 11, 499-509, 1982)の方法に準じて両側椎骨動脈を第一頸椎と後頭骨の間で確実に凝固切断した。その後麻酔から覚醒させ2,3日後に二回目の手術を行った。頸部正中切開を行い両側総頸、内頸、外頸動脈を露出した。猪原の論文に準じ片側総頸動脈にアミロイドコンストラクター(内径0.5mm)を装着し、対側内頸動脈は結紮した。本進行性脳虚血ラットは80%近い致死率を呈した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全脳モデルが作成できればもやもや病など進行性脳血管障害の治療に寄与すると考えられたが、本研究はモデルの致死率が高く、両側ではなく片側頸動脈の操作にモデルを変更して検討している。

研究成果の概要(英文)：Under general anesthesia by inhalation 1.5% isoflurane, bilateral vertebral arteries of 10-12 weeks old of Sprague-Dawley rats were coagulated and cut by bipolar coagulators. 2-3 days after, second operation was performed. Under general anesthesia, bilateral common, external, and internal carotid arteries were surgically exposed. Amyloid constrictor invented by Inohara et al was attached to right common carotid artery and contralateral internal carotid artery was ligated. Progressive focal brain ischemia could be obtained by this model but surgical mortality amounted to around 80%.

研究分野：脳血管障害

キーワード：ラット 進行性脳虚血 モデル

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我が国では年間 50 万人の脳梗塞が発生し、寝たきりの原因の 3 割、全医療費の 1 割を占める。このうち約 3 割を占める血行力学的脳虚血は脳主幹動脈が進行性に狭窄し局所脳血流量が低下することにより生じる。局所脳血流量が 20ml/100g/min 以下になると一時的な神経症状(一過性脳虚血発作(TIA))が出現するようになり、17-18ml/100g/min 以下になると壊死する神経細胞が出現し始める。最終的に rCBF が 10-12ml/min 以下になると 2-3 時間ですべての神経細胞が死滅する (Jones 1981)。慢性進行性の局所血行力学的脳虚血は動脈硬化性閉塞症やもやもや病で認められるがこれを再現する動物モデルは存在しなかった。しかし 2015 年に国立循環器病センターの猪原氏がマウスにおいて世界で初めて慢性進行性の局所脳虚血モデルを発表した(J. Neurosci 35:3915-28, 2015)。この方法はアミロイドコンストリクターという血管を徐々に狭窄させる器具をマウス頸動脈に装着するものであるが、ラットではまだ作成されていない。ラット中大脳動脈領域は後交通動脈を介した側副血行路が発達しており、加えて前交通動脈からの側副路もあるため、マウスのように頸動脈を狭窄、閉塞させるだけでは脳虚血は作成できない。これまでの経験と猪原氏の論文より、ラットにおいて側副路をすべて切断した上で、両側の頸動脈の同様の器具を装着することによって中大脳動脈領域に広範な慢性期血行力学的脳虚血を作成できるのではないかと考え、本研究の着想に至った。

### 2. 研究の目的

局所血行力学的脳虚血領域には局所脳血流の低下が著明で梗塞に陥ることが免れない Ischemic core 領域と、局所脳血流低下が軽度で障害がまだ可逆的な Penumbra 領域が混在し penumbra は治療可能な領域とされる。これを再現する動物モデルを作成することは血行力学的脳虚血に対する新たな治療法開発の端緒となる。申請者らは福井大学高エネルギー研究センターと共同で、ラット脳腫瘍モデルを用いて酢酸 PET による脳グリコ代謝を解析してきたが (Nucl Med Biol. 2009)、本年山内らがヒトを用いた臨床研究により、血行力学的脳虚血において神経細胞の血流代謝は低下しているがグリコ細胞の代謝は逆に亢進していると報告した (Stroke 2015)。これらの機序についてもラットモデルを用いた基礎研究で明らかし、血行力学的脳虚血治療の病態解明に寄与することが本研究の目的である。

### 3. 研究の方法

10-12 週齢の雄ラットを 1.5%イソフルレン吸入麻酔により全身麻酔をかけ、Pulsinelli の 4 vessel occlusion (Ann Neurol 11, 499-509, 1982)の方法に準じてラットを腹臥位とする。後頸部を切開し、手術用実態顕微鏡と双極電気凝固装置を用いて 両側椎骨動脈を第一頸椎と後頭骨の間で確実に凝固切断する。その後麻酔から一旦覚醒させ 2,3 日間を置いたのち二回目の手術を行う。イソフルレン吸入麻酔下でラットを背臥位としヒートパッドにより体温を 36.5-37.5 度に維持する。頸部正中切開を行い、両側総頸、内頸、外頸動脈を露出する。外頸動脈を凝固切断すると、中大脳動脈領域への血流は両側総頸動脈のみとなり、側副血行路は前交通動脈による対側からの血流のみとなる。猪原の論文(J. Neurosci 35:3915-28, 2015)に準じて総頸動脈に様々な口径のアミロイドコンストリクター(AC:マウスでは内径 0.5 mm を使用、Tokyo Instruments) ないしはマイクロコイル (MC:マウスでは内径 0.18 mm を使用、Samini) を留置する。実験は(1)非対称両側頸動脈治療群:右総頸動脈にアミロイドコンストリクターを左側にマイクロコイルを留置、(2)両側頸動脈狭窄群:両側総頸動脈に MC 留置、(3)一側頸動脈狭窄群:左総頸動脈のみに MC 留置、(4)一側頸動脈進行閉塞群:右総頸動脈に AC 留置、および(5)偽手術群の 5 群に分ける。レーザー血流計ないしは MRI を用いて術前および術後 1, 3, 7, 14, 28 日後に脳血流の変化を測定し、TTC 染色ないしは MRI を用いてその際の脳梗塞の発生の有無および範囲を測定する。高エネルギーセンターの酢酸 PET を用いてグリコ代謝を測定する。

### 4. 研究成果

10-12 週齢の雄ラットを 1.5%イソフルレン吸入麻酔下に、Pulsinelli の 4 vessel occlusion (Ann Neurol 11, 499-509, 1982)の方法に準じ両側椎骨動脈を第一頸椎と後頭骨の間で確実に凝固切断した。その後麻酔から覚醒させ 2, 3 日後に同様にイソフルレン吸入麻酔下に頸部正中切開を行い両側総頸、内頸、外頸動脈を露出した。猪原の論文に準じ片側総頸動脈にアミロイドコンストリクター(内径 0.5 mm)を装着し、対側内頸動脈は結紮した。本進行性脳虚血ラットは 80%近い致死率を呈した。本モデルは作成できればもやもや病など進行性脳血管障害の治療に寄与すると考えられたが、致死率が高いため体側内頸動脈は軽度狭窄に止めるなど、虚血の軽減が必要と判断された。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

1. Endo Y, Hasegawa K, Nomura R, Arishima H, Kikuta KI, Yamashita T, Inoue Y, Ueda M, Ando Y, Wilson MR, Hamano T, Nakamoto Y, Naiki H. Apolipoprotein E and clusterin inhibit the early phase of amyloid- aggregation in an in vitro model of cerebral

- amyloid angiopathy. *Acta Neuropathol Commun.* 2019 Jan 28;7(1):12. 査読有 doi: 10.1186/s40478-019-0662-1. PubMed PMID: 30691533; PubMed Central PMCID:PMC6348632.
2. Akazawa A, Koderu T, Awara K, Arai H, Yamada S, Higashino Y, Tsunetoshi K, Matsuda K, Arishima H, Kitai R, Kikuta K. [Vestibular Schwannoma Surgery with Continuous Intraoperative Monitoring of Evoked Facial Nerve Electromyograms]. *No Shinkei Geka.* 2018 Jul;46(7):593-598. 査読有 doi: 10.11477/mf.1436203775. Japanese. PubMed PMID: 30049900.
  3. Okazawa H, Higashino Y, Tsujikawa T, Arishima H, Mori T, Kiyono Y, Kimura H, Kikuta KI. Noninvasive method for measurement of cerebral blood flow using 0-15 water PET/MRI with ASL correlation. *Eur J Radiol.* 2018 Aug;105:102-109. 査読有 doi:10.1016/j.ejrad.2018.05.033. Epub 2018 Jun 1. PubMed PMID: 30017265.
  4. Kitade I, Kitai R, Neishi H, Kikuta KI, Shimada S, Matsumine A. Relationship between gait parameters and MR imaging in idiopathic normal pressure hydrocephalus patients after shunt surgery. *Gait Posture.* 2018 Mar;61:163-168. 査読有 doi: 10.1016/j.gaitpost.2018.01.008. Epub 2018 Jan 12. PubMed PMID: 29413784.
  5. Neishi H, Ikawa M, Okazawa H, Tsujikawa T, Arishima H, Kikuta KI, Yoneda M. Precise Evaluation of Striatal Oxidative Stress Corrected for Severity of Dopaminergic Neuronal Degeneration in Patients with Parkinson's Disease: A Study with 62Cu-ATSM PET and 123I-FP-CIT SPECT. *Eur Neurol.* 2017;78(3-4):161-168. 査読有 doi: 10.1159/000479627. Epub 2017 Aug 24. PubMed PMID: 28848099.
  6. Koderu T, Arai Y, Arishima H, Higashino Y, Isozaki M, Tsunetoshi K, Matsuda K, Kitai R, Shimizu K, Kosaka N, Yamamoto T, Shioura H, Kimura H, Kikuta KI. Evaluation of obliteration of arteriovenous malformations after stereotactic radiosurgery with arterial spin labeling MR imaging. *Br J Neurosurg.* 2017 Dec;31(6):641-647. 査読有 doi: 10.1080/02688697.2017.1365818. Epub 2017 Aug 22. PubMed PMID: 28830253.
  7. Terasaka S, Taoka T, Kuroda S, Mikuni N, Nishi T, Nakase H, Fujii Y, Hayashi Y, Murata JI, Kikuta KI, Kuroiwa T, Shimokawa S, Houkin K. Efficacy and safety of non-suture dural closure using a novel dural substitute consisting of polyglycolic acid felt and fibrin glue to prevent cerebrospinal fluid leakage-A non-controlled, open-label, multicenter clinical trial. *J Mater Sci Mater Med.* 2017 May;28(5):69. 査読有 doi: 10.1007/s10856-017-5877-8. Epub 2017 Mar 29. PubMed PMID: 28357687.

[学会発表](計 45 件)

1. 菊田健一郎(発表)「前方循環未破裂動脈瘤における鍵穴クリッピングの初期経験と適応決定」*Stroke* 2019 2019/3/21 パシフィコ横浜
2. 菊田健一郎(発表)「Recovery of neurological deficits in surgery for cerebellar AVMs」2019/1/12 Asian Congress of Neurosurgical Society Arteriovenous Malformation Summit in Hanoi, Vietnam
3. 菊田健一郎(発表)「How to secure safety of surgery for unruptured brain AVMs in post-AEUBA era」2019/1/12 Asian Congress of Neurosurgical Society Arteriovenous Malformation Summit in Hanoi, Vietnam
4. 菊田健一郎(発表)「Significance of Occlusion Time of in Bypass Surgery for Moyamoya Disease」2018/12/22 WFNS Foundation ACNS Live Seminar Uzbekistan
5. 菊田健一郎(発表)「How to secure safety of surgery for unruptured brain AVMs in post-AEUBA era」2018/12/22 WFNS Foundation ACNS Live Seminar Uzbekistan
6. 菊田健一郎(発表)「Results of initial experience of keyhole clipping」2018/11/11 日本鍵穴手術頭蓋底学会 明治記念館
7. 菊田健一郎(発表)「脳卒中の最新治療とリスク管理」2018 福井県労災指定医協会講演会 ユアーズホテル(福井)
8. 菊田健一郎(発表)「Initial experience of keyhole clipping for unruptured aneurysm」International Congress on Keyhole Neurosurgery 2018、蘇州(中国)
9. 菊田健一郎(発表)「Basic routines in my STA-MCA anastomosis」7th Annual Walter E. Dandy Neurosurgical Society Meeting in Cabo 2018/10/12 Los Cabos メキシコ
10. 菊田健一郎(発表)「小脳脳動脈奇形摘出術の手術手技と機能回復」第 77 回日本脳神経外科学会学術集会 2018/10/10 仙台国際センター
11. 菊田健一郎(発表)「Initial experience of keyhole clipping for unruptured aneurysm」[14]アジアオセアニア頭蓋底学会コンgres (AOSBSC) [9]台湾頭蓋底外科学会総会 [8]台湾悪性脳腫瘍下垂体学会、2018/9/22 台中 LIN hotel
12. 菊田健一郎(発表)「How to secure safety of surgery for unruptured brain AVMs in

- post-AEUBA era」 PragueNeurosurgical Week 2018/8/30 プラハ(チェコ)
13. 菊田健一郎(発表)「脳卒中多職種間連携における FIM の重要性」日本臨床脳神経外科学会 2018/7/14 ホテル日航金沢
  14. 菊田健一郎(発表)「Tips for key-hole clipping for anterior circulation aneurysms」JSC10 周年記念国際学会 2018/7/4 カザフスタン国立脳神経外科センター
  15. 菊田健一郎(発表)「How to secure safety of surgery for unruptured brain AVMs in post-AEUBA era」9<sup>th</sup> European-Japanese Cerebrovascular Congress 2018/6/7 Milan Italy
  16. 菊田健一郎(発表)「Similarities and difference between Russia and Japan」第 6 回露日脳神経外科シンポジウム 2018/5/21 グランディア芳泉(福井)
  17. 菊田健一郎(ディスカッサント)プレナリーセッション「出血性脳血管障害」第 38 回日本脳神経外科コンgres 2018/5/18 大阪国際会議場(大阪)
  18. 菊田健一郎(特別講演)「脳卒中治療における急性期病院の役割」ストップ脳卒中 in 米子、2017/11/17ANA クラウンプラザホテル米子
  19. Kikuta K「Surgical outcome of Spetzler-Martin grade III and IV AVMs with current neuroimaging」、日中脳神経外科連盟第 1 回学術集会、2017/11/3 中国鄭州中州華鼎飯店
  20. 菊田健一郎(口演)「未破裂脳動静脈奇形に対する治療戦略と成績」第 76 回日本脳神経外科学会学術総会、2017/10/12 名古屋国際会議場
  21. 菊田健一郎(特別講演)「Risk reduction and monitoring in neurosurgical practice」第 16 回高知県脳神経外科研究会、2017/10/5 ラヴィーダ(高知)
  22. Kikuta K(特別講演)「Master class of microsurgery of brain vascular diseases using fluorescein angiography with ICG and operative demonstration」2017/9/18~2017/9/22, National Center for Neurosurgery (JCI), Astana, Kazakhstan
  23. Kikuta K「Significance of Occlusion Time in Bypass Surgery for Moyamoya disease」WFNS2017, 2017/8/24, Istanbul Congress Center
  24. Kikuta K「Safe Occlusion Time of recipient artery in direct bypass for moyamoya disease」WFNS2017, 2017/8/21, Istanbul Congress Center
  25. Kikuta K「Role of Bypass in aneurysm and tumor surgery」WFNS2017, 2017/8/21, Istanbul Congress Center
  26. 菊田健一郎(特別講演)「Monitoring in neurovascular surgery」愛媛サマーストロークカンファレンス (ECCS2017)、2017/7/26 松山
  27. 菊田健一郎(特別講演)「頸動脈病変の手術～合併症を避けるための注意点」城東ニューロカンファレンス、2017/7/7 ロイヤルパークホテル
  28. Kikuta K(特別講演)「Brain aneurysm operation」2017/7/5 OJSK Railroad Clinical Hospital, Irkutsk, Russia
  29. 菊田健一郎(座長)中内淳「緊急手術症例から考える DOAC の選択及び用量調節の重要性」2017/6/29 白翁会ホール
  30. 菊田健一郎(特別講演)「医療機器開発事始め～工学部の人と物作りしてみよう」第 37 回日本脳神経外科コンgres LS、2017/5/13 横浜国際会議場
  31. Kikuta K: Bypass: How I do it. the International Conference "Polenov's Readings", 2017/4/19, Saint-Petersburg, Russia
  32. 菊田健一郎、川尻智士、荒井大志、東野芳史、根石拓行、常俊顕三、松田謙、有島英孝、小寺俊昭、北井隆平「もやもや病に対するバイパス術後の吻合関連虚血巣の出現と遮断時間の関係～何分以内に縫うべきか」第 46 回日本脳卒中の外科学会 (Stroke2017) 2017/3/16 大阪国際会議場
  33. 菊田健一郎(シンポジウム)「Flow Insight を用いたバイパス術中の脳表血流測定~STA 血流量の実測による定量補正」第 17 回日本術中画像学会 2017/3/2 鹿児島さんロイヤルホテル
  34. 菊田健一郎(座長)「高齢者の抗凝固療法にさじ加減は必要か」日本医科大学多摩永山病院神経内科部長 長尾 毅彦先生, Anticoagulation Expert Meeting in Fukui, 2017/2/9 ザ・グランユアーズホテルフクイ

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：

出願年：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者なし

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：岡沢 秀彦

ローマ字氏名：Okazawa Hidehiko

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。