

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07366

研究課題名(和文)脳表ヘモジデリン沈着症ラットモデルの作成

研究課題名(英文)Creation of a rat model of superficial siderosis

研究代表者

有島 英孝(Arishima, Hidetaka)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・准教授

研究者番号：70293420

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：ラットの脊髄硬膜に穴をあけ髄液漏を人工的に作成し皮下の微量な血液が脊髄や脳の表面に沈着するかラットの脳表ヘモジデリン沈着症モデルの作成を試みた。ラットの脊髄硬膜に穴をあけてもすぐに結合組織で穴が閉鎖してしまい、十分な髄液漏を有する脳表ヘモジデリン沈着症モデルの作成は困難であった。作成したモデルの脊髄や大脳および小脳を病理組織学的に観察したがヘモジデリンの沈着は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳表ヘモジデリン沈着症は難聴から発症し慢性的に進行した結果、認知症や歩行困難になる。有効な治療法はない。原因不明と考えられたが、多くの症例に脊髄硬膜に欠損があることが判明し、硬膜外静脈からの長期間かつ持続的な微小出血が脳脊髄に沈着して発症すると考えられている。しかし証明するモデルはない。今回の研究はラットに髄液漏を作成し皮下の微量な血液が脊髄や脳の表面に沈着するかラットを使用してモデルを作成できないかと考えた。モデルが作成できれば、髄液漏と脳表ヘモジデリン沈着との因果関係が間接的に証明でき、何らかの治療法が発見できると考えられたが、ラットで脳表ヘモジデリン沈着症モデルの作成は困難であった。

研究成果の概要(英文)：We attempted to create a rat model of superficial siderosis. A hole was made in the dura mater of the rat spinal cord to artificially create a cerebrospinal fluid (CSF) leak, and a trace amount of blood confused in CSF.

Even if a hole was made in the dura mater of the rat, the hole was immediately closed by the connective tissue, and it was difficult to create a model of superficial siderosis. Histopathological observations of the spinal cord, cerebrum, and cerebellum of the created model showed no hemosiderin deposition.

研究分野：脳神経外科

キーワード：脳表ヘモジデリン沈着症 硬膜欠損 髄液漏

1. 研究開始当初の背景

難聴から発症し認知症や重篤な四肢の運動感覚障害、小脳失調をきたす脳表ヘモジデリン沈着症は原因不明と考えられてきた。本疾患は進行性かつ不可逆の疾患で、臨床症状として、感音性難聴のほか、複視、小脳運動失調、錘体路徴候、認知機能障害などが徐々に進行して患者の日常生活を妨げる。以前は剖検や手術からでしか、確定診断を得られずまれな疾患と考えられていたが、近年 MRI、特にヘモジデリンを鋭敏に撮影できる T2* 強調画像によって画像診断ができるようになったことで注目を集めており、以前よりも多く診断されるようになってきている。なお本疾患は本邦の指定難病にもしてされている。最近の論文や発表では、患者の多くに脊髄硬膜に小さな欠損(穴)が存在することが判明した。このような所見から硬膜外静脈からの微量出血が長期間、髄液に混入した結果、脳表にヘモジデリンが沈着して発症することが示唆されている。しかしながら明確な証拠はなく動物実験モデルはない。

2. 研究の目的

脳表ヘモジデリン沈着症のラットモデルの作成が可能になれば、脊髄硬膜の欠損による慢性的な髄腔内の微量出血が本疾患の原因であると断定できる。またモデルが作成されれば、将来的に脳表ヘモジデリン沈着症に苦しむ患者に対する治療に寄与するところが大いと考えた。本疾患の原因が判明すれば、外科あるいは内科的治療の確立に寄与できる。現在報告されている治療には、欠損硬膜を検索し修復する外科的治療のほかに、止血剤やキレート剤の投与、あるいはステロイドの報告があるが、いずれも限定的であり、それら治療の有効性も示されていない。

3. 研究の方法

(1) 硬膜欠損のラットモデルを作成

脳表ヘモジデリン沈着症のラットモデルを作成する。ラットの脊髄硬膜は小さく、また十分な硬膜欠損が作成できない可能性がある。どこにどれくらいの大きさの硬膜欠損を作成したほうがよいかを調べるため、全身麻酔下に様々な硬膜欠損のサイズの上位脊髄硬膜欠損モデルを 5 匹、中位脊髄硬膜欠損モデルを 5 匹、下位脊髄硬膜モデルを 5 匹、脳硬膜欠損モデルを 15 匹作成する。

(2) 脳・脊髄におけるヘモジデリン沈着の病理学的検討

硬膜欠損作成後、脳あるいは脊髄にヘモジデリンの沈着が生じるとすれば、どれくらいの期間で沈着が生じるのかを調べる必要がある。各々の硬膜欠損モデルを約 1、2、3、6 ヶ月後にラットの脳、脊髄を取り出して、組織をホルマリン固定した後、脳あるいは脊髄におけるヘモジデリンの沈着の有無を触媒法や鉄染色(ベルリン青法)で調査する。また電子顕微鏡を使用して脳、脊髄の細胞のどの部分にヘモジデリンが沈着するのか検討する。

(3) 神経学的所見の検討

脳表ヘモジデリン沈着症の臨床症状として、感音性難聴、複視などの脳神経異常、小脳運動失調、錘体路徴候、認知機能障害などを呈する。ラットにも同様の症状が出現する可能性があるが、聴覚や眼球運動の障害については判断が困難であると思われるので、嗅神経や運動機能の異常について観察する。

(4) 脳あるいは脊髄にヘモジデリンの沈着が認められない場合

初期の 1 年間で脳表ヘモジデリン沈着が認められなかった場合を想定し、硬膜欠損モデルの飼育を最長 12 ヶ月まで継続して(令和 2 年度まで)、上記の方法で脳や脊髄におけるヘモジデリンの沈着の有無を調べる。

(5) 治療の検討

初年度に脳表ヘモジデリン沈着症のラットモデルが作成できた場合、治療法の検討について調査する。脳あるいは脊髄におけるヘモジデリンの沈着が軽度認められた時期に、外科治療による硬膜修復、アドレノクロムやビタミンK、抗プラスミン剤などの止血剤の投与、デフェラシロクスなどの鉄キレート剤の投与、ステロイド剤の投与を行い、ラットを数か月間飼育した後、脳、脊髄を取り出して、上記の方法で脳あるいは脊髄におけるヘモジデリン沈着の有無を評価しそれぞれの治療の効果を判定する。

4．研究成果

人に見られるような理想的な硬膜欠損（髄液漏）のラット作成が困難であり、ラット脳表ヘモジデリン沈着症モデルの作成は不可能であった。くも膜および硬膜の欠損部が短期間に結合組織で修復されてしまうこと、またラットの髄液量が少ないことが原因と考えられ、人で見られるような皮下に髄液が貯留するような状態にはできなかった。大きな硬膜欠損を作成するために椎弓切除を拡大すると脊髄損傷をきたし長期間、ラットを飼育することができなかった。本研究中に作成したモデルの脳脊髄を病理学的に検討したが、脳や脊髄におけるヘモジデリンの沈着は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------