

令和 3 年 5 月 1 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08934

研究課題名(和文)新規慢性脳虚血および脳血管内皮機能障害モデルの開発と血流再建後過灌流機序の解明

研究課題名(英文) Development of a new experimental model of chronic cerebral ischemia with vascular endothelial impairment and elucidation of hyperperfusion following vascular reconstruction

研究代表者

清水 宏明 (Shimizu, Hiroaki)

秋田大学・医学系研究科・教授

研究者番号：20506638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ラット慢性脳虚血を作成し血行再建することで過灌流を惹起するモデルを作成した。脳血流測定にはlaser speckle flowmetry (LSF)を用い、過灌流の観察は可能であったが、LSFによる脳血流測定の再現性に問題があった。そこで、LSFによる脳血流測定の精度と安定性を向上するための実験条件を検討したところ、体温・血圧管理、呼吸性体動制御、開頭後の測定部位硬膜の状態などを一定にすることが重要であった。LSF方法の総合的系統的研究は乏しく新しい知見を得た。この方法で、慢性虚血の血行再建後の過灌流を作成したところ、当初より安定した脳血流測定が可能となり過灌流も明瞭に観察できるようになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでlaser speckle flowmetry (LSF)はしばしば脳血流測定のツールとして使用されてきた。レーザー光の反射を観察する原理から、測定結果には脳血流変動以外の様々な因子が影響する可能性があるが、それらに関する検討は乏しかった。今回、変動要因を検討しその対策を明らかにできたことで、LSFを用いたすべての研究の精度、再現性の向上に役立つと考えられる。実際、我々もこの方法を適用して慢性虚血の血行再建後の過灌流についても再現性のよい研究が可能となった。LSFを用いた様々な脳血流研究を通じ、脳外科手術の安全性向上、慢性脳虚血と認知症の関係などの研究に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：A rat model of hyperperfusion after vascular reconstruction on chronic cerebral ischemia was investigated, however, laser speckle flowmetry (LSF) provided unreliable cerebral blood flow results. Proper conditions to bring stable LSF results were then explored and several factors such as body temperature, blood pressure, head fixation, and settled condition of craniotomy site for LSF measurement were found to be important. These conditions were applied to the model, which finally demonstrated hyperperfusion reproducibly.

研究分野：脳血管障害

キーワード：慢性脳虚血 慢性脳低灌流 血行再建 過灌流 ラット

1. 研究開始当初の背景

脳梗塞患者における血栓内膜剥離術やバイパス術後早期の過灌流は、術前の慢性的な高度脳虚血状態の場合にみられ、発生機序は明確でない。自動調節能は血管内皮を中心とした生理機能でもたらされることや、血行再建中にフリーラジカルスカベンジャー(エダラボン)を投与すると術後の過灌流がある程度予防できることなどから、血管内皮が関係している可能性があるが十分な検討はなされていない。問題として本病態を研究するのに適した動物モデルがないことがあげられる。

本研究開始時点で、東北大学脳神経外科で開発された慢性虚血後再灌流により過灌流をきたすラットモデルが学会発表されていた(のちに論文発表¹⁾)。

そこでこのモデルに、実験的脳動脈瘤モデルで用いられるエストロゲン枯渇を加えることで内皮障害を惹起し生じる過灌流との関係を検討することとした。

2. 研究の目的

当初の本研究の目的は、「仮説:慢性虚血に対する血行再建後の過灌流は血管内皮機能障害が原因となりうる」を検証すること、すなわち、慢性虚血に対する血行再建後の過灌流に血管内皮機能障害が関与するかどうかを明らかにすることとした。

3. 研究の方法

まず、血管内皮機能障害を伴うラット慢性虚血後過灌流モデルとして、7週齢雌ラットの両側卵巣を摘出しエストロゲン減少による血管内皮機能障害を惹起後、一定期間後に総頸動脈を一側結紮+他側高度狭窄による慢性虚血を作成、3日後に狭窄を解除して過灌流を観察した。脳血流測定には laser speckle flowmetry (LSF)を用いた。

過灌流の観察は可能であったが、再現性が低く、虚血自体の検出も不明瞭なことがあった。脳血流測定が不安定なためと推測し、LSFによる脳血流測定法の改良が必要と考えた。

そこで、研究期間の後半(2020年度)では、LSF測定の精度と安定性を向上するための実験条件を検討した。

LSFによる脳血流測定は、ラット頭蓋骨に窓をあけ、硬膜の上からあるいは硬膜切開し脳表にレーザーをあて、流れる赤血球の反射レーザーを捉えることで赤血球の流速すなわち脳血流を測定する。赤血球以外にブラウン運動等でレーザーを反射するものがあれば影響がある。

従って、この測定に脳血流以外で影響を与えうるのは、ラットの呼吸性体動、開頭部の硬膜あるいは脳の状態(乾燥程度、開頭後の経過時間、軟部組織の状態など)、測定装置と頭部の距離や角度、体温、血圧などと考えられた。これらのパラメータを種々に変えて、LSF測定値の安定性を検討した。

その後、もっとも安定して測定できる条件を決定し、これを反映させた方法で再度、慢性低灌流後過灌流を観察した。

4. 研究成果

2019年度までに、血管内皮機能障害を伴うラット慢性虚血後過灌流モデルとして、7週齢雌ラットの両側卵巣を摘出しエストロゲン減少による血管内皮機能障害を惹起後、一定期間後に総頸動脈を一側結紮+他側高度狭窄による慢性虚血を作成、3日後に狭窄を解除してLSFを用いて過灌流を観察した。

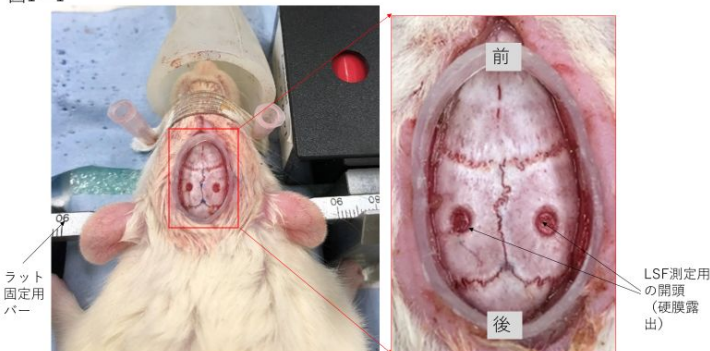
その結果、一部のラットで過灌流が観察されたが、結果は不安定で、脳虚血が明瞭でなかったり、過灌流が観察されないこともあった。

2020年度は、LSF測定の精度と安定性を向上するための実験条件を改めて検討した。その結果、LSF測定結果は、体温、体温調整のためのヒーティングのオン・オフ刺激、血圧、呼吸性体動などに大きな影響をうけていた。

一例として、呼吸性体動を頭部固定により抑制したときのLSF信号の変化を図1-1、1-2に示す。

また、測定部位の開頭後の硬膜を乾燥させるか湿潤を保つかでも経時的なLSF結果の変動が大きかった。これらの変動要因を解決することで、再現性のよいLSF測定がはじめて可能にな

図1-1



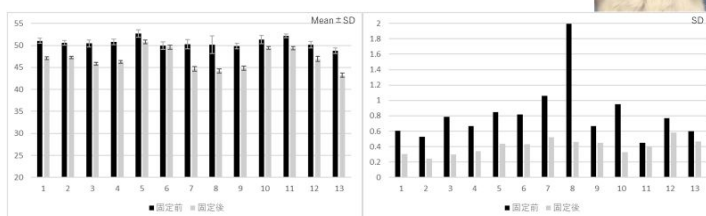
った。これらは、過去の論文で部分的に検討されたことがあったが、総合的系統的に検討した研究は乏しく新しい知見と思われた。

この結果を反映させた方法で再度、慢性低灌流後過灌流を観察したところ、当初より安定した脳血流測定が可能となり、過灌流も明瞭に観察することができるようになった。

本研究期間の成果は、今後のLSFを用いた脳血流測定研究に広く役立つと考えられ、現在論文執筆中である。

図1-2 【頭部固定】

N=13(ラット7匹、左右のROI区別なし)
mean ± SD



頭部固定前(黒)に比べ、後(灰色)でLSFで測定した CBFは低下(p=3.864 × 10⁻⁶<0.05)

頭部固定前後でLSF測定値のばらつき(標準偏差)半減(p=0.006113<0.05)

文献

1. Ahmed Mansour, et al., A novel model of cerebral hyperperfusion with blood-brain barrier breakdown, white matter injury, and cognitive dysfunction. J Neurosurg 133:1460–1472, 2020

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 清水宏明	4. 巻 29
2. 論文標題 脳動脈瘤克服への可能性を考える	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 脳神経外科ジャーナル	6. 最初と最後の頁 4-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7887/jcns.29.4	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 富樫俊太郎, 柳澤 俊晴, 清水 宏明	4. 巻 48
2. 論文標題 静脈グラフトを用いた high flow バイパス術	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 脳卒中の外科	6. 最初と最後の頁 265-269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2335/scs.48.265	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Endo H, Fujimura M, Shimizu H, Endo T, Omodaka S, Inoue T, Sato K, Niizuma K, Tominaga T.	4. 巻 136
2. 論文標題 Optimal Timing of Extracranial-Intracranial Bypass with Microsurgical Trapping for Ruptured Blister Aneurysms of the Internal Carotid Artery.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 World Neurosurg	6. 最初と最後の頁 e567-e577
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.wneu.2020.01.081.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Suda Y, Kokubun K, Takahashi Y, Saito A, Wakasa R, Shimizu H	4. 巻 14
2. 論文標題 Rapid de novo Formation of a Large Aneurysm in a Patient with Fibromuscular Dysplasia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neuroendovascular Therapy	6. 最初と最後の頁 69-75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5797/jnet.cr.2019-0075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Y, Suda Y, Fushimi S, Shibata K, Kondo R, Oda M, Shimizu H	4. 巻 14
2. 論文標題 Endovascular Stenting Following Stereotactic Radiosurgery for Meningioma Involving the Superior Sagittal Sinus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Neuroendovascular Therapy	6. 最初と最後の頁 273-278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5797/jnet.cr.2020-0048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Togashi S, Shimizu H, Suda Y.	4. 巻 7
2. 論文標題 Utility of Near-infrared Spectroscopy Monitoring in the Management of Hyperperfusion Syndrome after Intracranial Carotid Artery Stenting.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 NMC Case Rep J	6. 最初と最後の頁 223-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2176/nmccrj.cr.2020-0003. eCollection 2020 Sep.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Hatakeyama J, Furuyama Y, Niizuma K, Tominaga T, Shimizu H
2. 発表標題 An experimental model of hyperperfusion following chronic cerebral ischemia in rats: effect of estrogen deficiency and hypertension
3. 学会等名 第29回国際脳循環代謝学会総会 (Brain&BrainPET 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hamasaki R, Shimizu H, Niizuma K, Tominaga T
2. 発表標題 A rat model of venous sinus occlusion; impact on cerebral blood flow
3. 学会等名 第29回国際脳循環代謝学会総会 (Brain&BrainPET 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水宏明
2. 発表標題 虚血性脳血管障害の手術とその背景
3. 学会等名 第5回 Neurosurgery Seminar in 道東 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Junya Hatakeyama, Yosuke Furuyama, Kuniyasu Niizuma, Teiji Tominaga, Hiroaki Shimizu
2. 発表標題 An experimental model of hyperperfusion following chronic cerebral ischemia in rats: effect of estrogen deficiency and hypertension.
3. 学会等名 BRAIN & BRAIN PET 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 清水 宏明	4. 発行年 2020年
2. 出版社 メジカルビュー社	5. 総ページ数 296
3. 書名 脳卒中の外科 編集：井川 房夫、黒田 敏、清水 宏明	

1. 著者名 清水宏明	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 2114
3. 書名 今日の診断指針 デスク判 第8版 永井良三 (総編集)	

〔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
研究 分 担 者	新妻 邦泰 (Niizuma Kuniyasu) (10643330)	東北大学・医工学研究科・教授 (11301)	

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