

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 6 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591582

研究課題名（和文）くも膜下出血後脳血管攣縮における脳微小循環における  
組織学的・機能学的研究研究課題名（英文）Functional and histological analysis of brain microcirculation  
after subarachnoid hemorrhage

研究代表者

堀内 哲吉 (HORIUCHI TETSUYOSHI)

信州大学・医学部・准教授

研究者番号：40303466

研究成果の概要（和文）：ラット脳微小循環について脳血流制御因子の細胞外イオン濃度における薬理学的研究を中心に行った。細胞外イオン濃度（カリウムとマグネシウム）のレンズ核線条体動脈に対する血管反応を解明した。レンズ核線条体動脈周囲の組織学的検討を試みたが、間隙の評価が難しく評価方法の再考が必要であった。くも膜下出血後の脳微小循環評価を MRI で行ったが、観察症例では大きな変化は認められなかった。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effects of changing the extracellular potassium as well as magnesium concentration in rat cerebral penetrating arterioles. It was difficult to evaluate the histological change of cerebral penetrating arterioles including Virchow-Robin space. MRI perfusion images showed no remarkable alternation of local blood flow in basal ganglia after subarachnoid hemorrhage.

交付決定額

(金額単位：円)

|         | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2010 年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 2011 年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 2012 年度 | 900,000   | 270,000 | 1,170,000 |
| 年度      |           |         |           |
| 年度      |           |         |           |
| 総計      | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科・実験脳外科学

キーワード：脳微小循環・くも膜下出血

### 1. 研究開始当初の背景

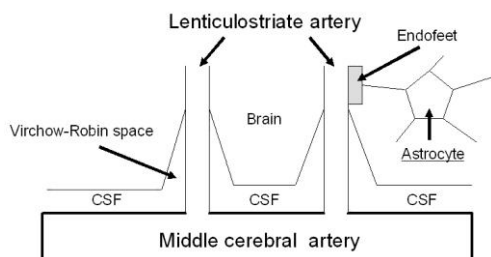
くも膜下出血後におこる脳血管攣縮は、脳内大血管における持続的な収縮による脳血流低下が主な病態と考えられ多くの研究がされてきた。しかし、大血管が脳血管撮影で

収縮していないのに虚血症状が強い症例があり治療に難渋する。この原因として脳微小循環の影響が考えられるが、脳微小血管における脳血管攣縮の研究はほとんどされていない。我々は以前より、中大脳動脈より分枝するレンズ核線条体動脈(Lenticulostriate

artery: 以下 LSA)に注目し、他部位の脳内大血管（内頸動脈・中大脳動脈・脳底動脈）と比べて著しい血管反応性の違い（部位差）があることを報告してきた（Stroke 2002; 33:844-849, Stroke 2002; 33:2692-2699, Stroke 2003; 34:1473-1478, J Neurosurg 2004; 101: 330 - 335）。この結果より脳血管攣縮においても大血管と比較して部位差が存在することが予想される。

## 2. 研究の目的

くも膜下出血後脳血管攣縮において、血流制御因子として脳脊髄液の微量イオン濃度（マグネシウム）ならびにグリア細胞（エンドフィートからのカリウム放出）が注目されている。カリウムは、脳微小循環において neurovascular unit としての局所的な血流制御として重要な働きをしている。また、マグネシウムは強力な血管拡張物質として最近再注目されている。LSA においても2つのイオンは以下の理由より重要な因子になると思われる（下図参照）。①脳脊髄液は Virchow-Robin 腔において LSA 外腔に接している。②グリア細胞の一種であるアストロサイトのエンドフィートが LSA の外膜に分布している。



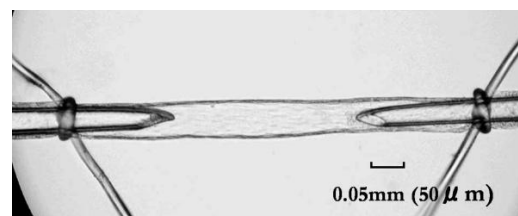
図説明：中大脳動脈 (middle cerebral artery)・LSA と Virchow-Robin 腔との関係。

よって微量イオン濃度変化による血管反

応を解析し、くも膜下出血後脳血管攣縮における LSA の形態学的変化ならびに血流制御変化の変化を解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

血管薬理学的研究:実験には、SD ラット(雄、12 週齢)を用いた。腹腔内麻酔後に脳を顕微鏡下に摘出した。摘出した脳より中大脳動脈を含む 4 mm ×3 mm ×1 mm の脳スライスを顕微鏡下で作成する。軟膜とくも膜を利用して脳内に穿通している LSA を摘出する。摘出した細動脈の両端を、自作した臓器槽に装着された微小ガラスピペットを用いてカニューレーションする（下図参照）。カニューレーションされた細動脈の両端を固定して、顕微鏡下に観察する。細動脈に生理的内圧を負荷する。臓器槽を髄液の pH である 7.3、温度 37°C に保たれた生理学的溶液を持続的に灌流すると自発性の血管収縮を認める。この状態をコントロールとして、細胞外カリウムならびにマグネシウム濃度変化による細動脈の内径を測定した。



図説明：ピペットで両端をカニューレーションされた LSA

組織学的研究：中大脳動脈より分枝する LSA（血管内径 50~100 マイクロメートル）を含む脳切片を作成した。顕微鏡で Virchow-Robin 腔と LSA の関係にて解析した。

MRI 研究：実際の脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血患者において、LSA 領域の血流評価について MRI perfusion で研究を行った。最近

開発された造影剤を用いない arterial spin labeling 法を用いて脳血流変化について解析した

#### 4. 研究成果

血管薬理学的研究：生理学的状態での研究結果を論文として発表した。細胞外カリウム濃度を 3.0 mmol/L から 1.0 mmol/L に低下させると、2 相性の血管反応（一過性の収縮反応後に弛緩反応）を認めた。この一過性収縮反応は Na-K-ATPase 阻害剤と L-type Ca channel 阻害剤にて有意に抑制された。一方、K channel の阻害剤存在下では、変化は認められなかった。よって細胞外カリウム濃度低下による一過性収縮反応は K channel は関与しておらず、Na-K-ATPase の抑制によるものと思われた。細胞外マグネシウム濃度変化についても検討を行った。コントロールの細胞外マグネシウム濃度は 1.5 mmol/L として、上昇と低下により血管反応を解析した。濃度を 0.5 mmol/L に低下させると有意に収縮反応を認め、3.0 mmol/L に上昇させると拡張反応を認めた。細胞外マグネシウムはカルシウムの拮抗作用があることが知られており、細胞内カルシウムの流入を阻害することによる血管反応と思われた。

組織学的研究：組織学的に LSA 周囲の評価が困難であった。理由として、Virchow-Robin 腔が微小のため、標本作製による artifact との区別が困難であった。よってコントロールでの評価方法が確立できなかったため、自己血注入のくも膜下出血モデルにおいても Virchow-Robin 腔への影響については評価できなかった。

MRI 研究：くも膜下出血後、2 週間程度低下しているものと予想されたが、実際には軽度増加している事が多い事が判明した。くも膜

下出血後は、一時的に auto-regulation が障害されていることが示唆された。臨床的な脳血管攣縮を示した患者がなかったのも関係していると思われ、さらなる検討が必要であると思われた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Rahman NN, Horiuchi T, Hongo K: Early changes in tissue perfusion after tissue plasminogen activator administration in hyperacute ischemic stroke: initial experiences with arterial spin labeling perfusion magnetic resonance imaging –two case reports- Neurologia medico-chirurgica 53: 213-216, 2013 (査読有)
2. Murata T, Horiuchi T, Goto T, Li Y, Hongo K: Vasomotor response induced by change of extracellular potassium and magnesium in cerebral penetrating arterioles. Neuroscience Research 70: 30-34, 2011 (査読有)
3. Li Y, Horiuchi T, Murata T, Hongo K : Mechanism of alkalosis-induced constriction of rat cerebral penetrating arterioles. Neuroscience Research 70: 98-103, 2011 (査読有)

[学会発表] (計 5 件)

1. 瀬口達也、堀内哲吉、Nunung Nur Rahmah: 脳卒中診療における 3D Arterial Spin Labeling (3D-ASL) の有用性 第 40 回日本救急医学会総会・学術集会, 京都, 2012/11/15
2. Murata T, Dietrich HH, Horiuchi T, Hongo K, Dacey RG Jr. Aanalysis of vasodilation induced by increased extracellular magnesium concentration in cerebral penetrating arterioles. 42nd Annual Meeting of Society for Neuroscience, New Orleans, USA 2012/10/16
3. 村田貴弘、Dietrich HH, 堀内哲吉、本郷一博、Dacey RG Jr. 脳細動脈における細胞外マグネシウム濃度増加による

血管拡張第 28 回スパスム・シンポジウム STROKE2012, 福岡, 2012/04/26

4. 堀内 哲吉 : MR 非造影灌流画像を用いた脳血流検査の有用性 第 23 回日本脳循環代謝学会総会, 東京, 2011/11/4-5
5. 堀内 哲吉 : 摘出ラットレンズ核線条体動脈におけるマグネシウムならびにカリウムによる血管反応性の解析 第 22 回日本脳循環代謝学会総会, 大阪, 2010/11/27

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

堀内 哲吉 (HORIUCHI TETSUYOSHI)  
信州大学・医学部・准教授  
研究者番号 : 40303466

##### (2) 研究分担者

本郷 一博 (HONGO KAZUHIRO)  
信州大学・医学部・教授  
研究者番号 : 00135154

村田 貴弘 (MURATA TAKAHIRO)  
信州大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号 : 80533322