

機関番号：14401
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21791357
 研究課題名(和文) レーザースペックル血流計を用いた脳虚血巣周辺領域の血流変化イメージング
 研究課題名(英文) Imaging of regional cerebral blood flow in the surrounding of cerebral infarction using laser speckle flowmetry system
 研究代表者
 中村 元 (NAKAMURA HAJIME)
 大阪大学・医学部附属病院・特任助教(常勤)
 研究者番号：80533794

研究成果の概要(和文)：

リアルタイム脳表血流モニタリングシステムであるレーザースペックル血流計をラット脳梗塞モデルに用いることで、MRI、PETなどの従来の検査では検知不可能であった『虚血巣周辺部における脱分極波(Peri-infarct depolarization: PID)伝播』を可視化することができた。PIDは単に虚血巣から周辺に放射状に伝播するのではなく、虚血巣周囲のさまざまな部位から発生し、虚血巣辺縁に沿って接線方向に伝播していることも本研究で明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：

Laser speckle flowmetry, a novel non-invasive live imaging system of regional cerebral blood flow, enabled us to visualize the propagation of peri-infarct depolarization (PID) in penumbra that has not been detected with conventional imaging systems as MRI and PET. This method revealed that PID propagates not only from core to periphery in radial fashion but also along the ischemic lesion circumferentially.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
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・脳神経外科学

キーワード：脳血管障害、脳虚血、イメージング、皮質拡張性抑制

1. 研究開始当初の背景

(1) 予防医学の発達により、致命的な脳卒中の発症率は減少してきたが、虚血性脳疾患である脳梗塞の発症総数は減少しておらず、今後も高齢化が進む日本ではさらに増加すると考えられている。近年、発症後超急性期の脳梗塞症例に対する血栓溶解剤 (rt-PA) 使用が可能となり、脳梗塞急性期治療に一筋の光明が見出されたが、その治療適応となる症例はほんの数%程度にすぎず、実際の臨床ではその治療タイミングを逃した症例を扱うことがほとんどである。これらの症例に対しては、虚血中心部 (極度の虚血により既に脳梗塞となってしまった部位) の周辺に存在する可逆性組織 (ペナンプラ) への血流改善および神経保護を目的として、抗血小板薬・抗凝固薬・脳保護薬などが投与されるものの、その梗塞巣増大予防機序に関してのエビデンスは十分とはいえず、実際に血流改善などの直接効果があるのかどうかは定かではない。

近年、脳虚血巣周辺領域において、毎分 3mm の速度で伝播する脳表脱分極波

(peri-infarct depolarization: PID) が発生・伝播していることが動物モデル、ヒト脳梗塞症例のいずれにおいても報告されてきた。PID の発生機序や伝播様式についてはいまだ不明な点が多いものの、PID 発生数と脳梗塞サイズの間には正の相関があることが指摘されており、PID は脳梗塞二次性増大の原因の一つであることが多くの研究者の興味の対象になっている。

上記背景から、本研究代表者である中村は、脳梗塞二次性増大機序解明のためには『脳梗塞発生後にどこで PID が発生しどのように伝播していくのか?』を明らかにしたいと考えた。ただし、脱分極の波である PID を画像化することは技術的に困難であるため、PID に付随する一過性脳表血流変化を可視化することで PID 伝播様式を解明する方法をとることとした。

(2) イメージング技術が急速に発展している昨今、組織表面の血流変化を秒単位で連続して観察できるレーザースペckル血流計

(Laser speckle flowmetry: LSF) が登場した。その原理は均一波長光 (780nm) を組織表面に照射し、その反射パターンの変化から表面の粒子の動き (≒血球の動き) を計算するというものである。LSF の特徴は、①組織表面の血流を二次元画像として描出できること、②毎秒 1 画像という時間解像度で観察できること、③観察中にリアルタイムで脳表血流変化を確認できること、などであり、ダイナミックな血流変化を起こす脳梗塞超急性期のモニタリングには非常に有用な手段

といえる。LSF を用いることで、脳梗塞発生時の脳表血流変化や、PID に付随する一過性脳表血流変化の可視化が可能になると思われた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、以下の項目を検証することである。

(1) LSF をラット脳梗塞モデルに導入し、脳表血流をモニタリングすることが可能かどうか。

(2) 脳梗塞周辺領域に発生する PID にもともなう脳表血流変化を LSF で確認できるかどうか。

(3) 脳梗塞周辺領域において PID がどれぐらいの頻度で発生するのか。

(4) 脳梗塞周辺領域において PID がどのように伝播するのか。

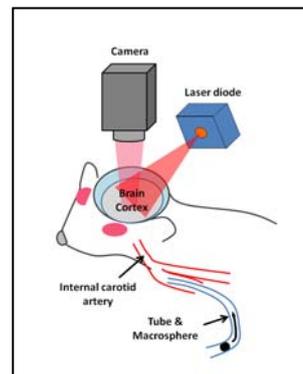
また、本研究では、対象としてラット遠隔的中大脳動脈塞栓モデルを用いており、これは LSF での脳表血流モニタリング下に脳梗塞を発生させるために導入された方法である

(詳細は『研究の方法』を参照)。この実験系を用いれば、脳梗塞発症のまさにその時や発症直後の血流不安定期を連続して観察することが可能であり、従来用いられた MRI や PET などの断続的なスタディーよりも多くの情報が得られると思われた。

3. 研究の方法

前述のごとく、本研究の目的は「脳梗塞発症から数時間にかけてのペナンプラにおける脳表血流変化を観察すること」である。そしてその目的を達成するべく、①ラット遠隔的中大脳動脈塞栓モデル (塞栓物質を遠隔的に内頸動脈に注入することで脳塞栓を作り出すモデル)、②レーザースペckル血流計 (脳表血流を二次元的に連続して観察可能な装置) を導入することとした (Fig. 1)。

Fig. 1



以下に具体的な研究計画・方法を述べる。

(1) 雄性 Wistar ラット 8 匹を用いて実験を行った。セボフルレン麻酔下、呼吸はマスクで自発呼吸とし、直腸温は heating blanket で 37.5 度に維持した。

(2) 左頸部頸動脈分岐部を露出し、総頸動脈近位部と pterigopalatine artery は結紮した。外頸動脈を遠位部で切断し、そこから内頸動脈に向けて PE50 カニューレを挿入した。

(3) 体位を腹臥位に変換した後、定位固定装置で頭部を固定し、左頭蓋骨を脳表血管が透見できるまで広範囲に削除した (Fig. 2)。

Fig. 2



(4) LSF にて左大脳半球脳表血流を薄く削除した頭蓋骨越しに 30 分間観察した後に、先に留置した PE50 カニューレより 300 μm のビーズを注入し、脳塞栓を起こさせた。

(5) ビーズ注入による脳虚血発症を LSF でリアルタイムに確認した後、3 時間にわたりモニタリングを継続した。

(6) 脳梗塞発症 3 時間後に人工気胸を作製し実験を終了した。

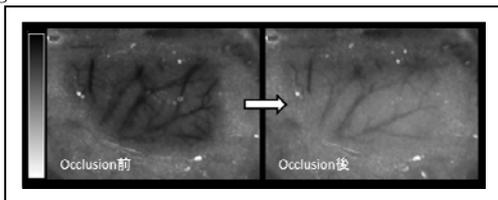
4. 研究成果

(1) LSF による脳表血流モニタリング

本システムによりラット脳表血流のリアルタイムモニタリングが可能であることが確認できた。ただし、本画像は定性画像であるため、脳表血流の絶対値測定は不可能である。しかし、観察領域内での脳表血流多寡を確認し、それを経時的に観察するには極めて有効であった。

*脳梗塞作製前と作成後の画像を Fig. 3 に示す。『脳表血流 SPECT 画像』とでもいべき画像をリアルタイムに連続モニタリング可能であった。

Fig. 3

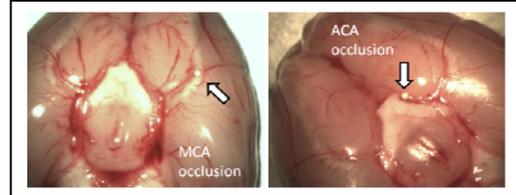


(2) ビーズ注入による虚血巣作製
ビーズ注入後の脳虚血巣発生もリアルタイム

に確認でき、閉塞血管の違いにより 2 パターンの虚血巣が作成された。7 例中 6 例は MCA 閉塞による脳梗塞が、1 例は前大脳動脈 (ACA) 閉塞による梗塞が作成された (Fig. 4)。

ただし、本実験系ではこれを意図的に行うことは不可能であり、今後ビーズ径を調整することで ACA 領域、MCA 領域の梗塞を意図的に作製できる可能性はある。

Fig. 4



(3) Peri-infarct depolarization (PID) の発生

LSF で左大脳半球を観察したが、その視野内で発生した PID の数は table のとおりである。PID 発生数に関しては、虚血領域の大きさによる差があり、露出された脳表の 1/3 ~ 2/3 が虚血に陥った例 (medium size) において多数認められた。本結果より、虚血範囲が小さい場合は compromised tissue が少ないため PID が発生しにくく、虚血範囲が大きい場合はすでに梗塞に陥った組織がほとんどであるため PID が発生しにくいものと思われる。

Table

No.	Rat	Sex	Weight	Occlusion	Lesion site	Duration	Total PID	Radial pattern	Circumferential pattern
1	Wistar	Male	320	MCA	Small (<1/3)	3 hr	5	1	2
2	Wistar	Male	336	MCA	Small (<1/3)	3 hr	3	2	1
3	Wistar	Male	321	ACA	Medium (1/3 ~ 2/3)	3 hr	16	7	20
4	Wistar	Male	305	MCA	Small (<1/3)	3 hr	4	0	4
5	Wistar	Male	380	MCA	Medium (1/3 ~ 2/3)	2 hr	10	1	15
6	Wistar	Male	327	MCA	Small (<1/3)	3 hr	1	1	0
7	Wistar	Male	395	MCA	Large (>2/3)	3 hr	3	1	2
Total							66	13 (20%)	53 (80%)

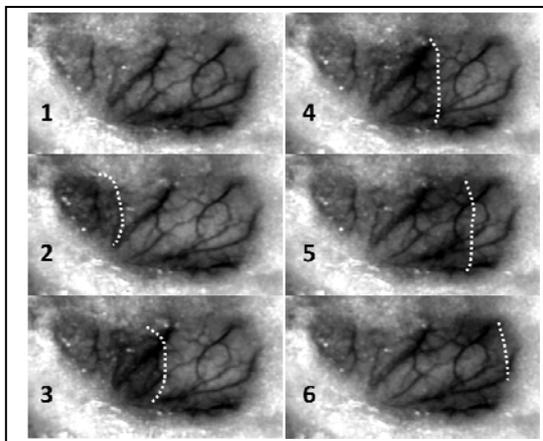
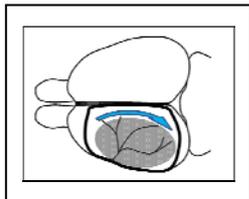
(4) PID の伝播様式について

PID の伝播に関しては、table のごとく虚血巣から周辺に向けて放射状に拡散するもの (radial pattern) より、虚血巣辺縁に沿って伝播するもの (circumferential pattern) が多く存在していた (Fig. 5)。つまり、虚血巣周辺部に発生した PID の多くは、虚血巣周囲を旋回し、辺縁部に存在するすべての compromised tissue に影響を与えるこ

とが推測される。PID 伝播はエネルギー需給バランスの悪化を引き起こすため*、虚血巣の同心円状増大に関与していると考えられた。

* (PID 伝播により脱分極した細胞は、再分極のためにエネルギーを要する。しかしすでに虚血状態に陥っている peri-infarct area においては十分なエネルギー供給がないためそのまま梗塞巣に陥ってしまう。)

Fig.5



(5) 側副血行路の形成について。
本研究の目的の1つとして、脳梗塞発症直後の側副血行路発達の画像化を掲げていたが、先に述べたように虚血巣周辺領域での一過性血流変化 (PID に伴う一過性血流変化) があまりに頻繁に発生したため、側副血行路発達については評価困難であった。逆に言うと、脳梗塞発症直後の脳血流測定が、如何に不安定なものであるかが明らかになった。

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)

[学会発表] (計2件)

(1) 中村元、藤中俊之、黒田淳子、西田武生、梶川隆一郎、芝野克彦、吉峰俊樹：新しい術中血流情報モニタリング～レーザーSpeckル脳表血流計 (LSF) の臨床応用～：第69回日本脳神経外科学会総会，2010. 10. 29，福岡国際会議場，

(2) 中村元，藤中俊之，Anthony J Strong, Andrew K Dunn, Rudolf Graf, 吉峰俊樹：レーザーSpeckル血流計を用いたラット脳表血流連続モニタリング～新しい脳表血流モニタリングモデル～：第21回日本脳循環代謝学会，2009. 11. 19，千里ライフサイエンスセンター

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 元 (NAKAMURA HAJIME)

大阪大学・医学部附属病院・特任助教(常勤)

研究者番号：80533794