

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：32666

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659850

研究課題名（和文）Microwave 照射による新しいびまん性脳損傷モデルの開発

研究課題名（英文） A new model of experimental brain injury by Microwave

研究代表者

布施 明 (FUSE AKIRA)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80238641

研究成果の概要（和文）：

一次爆発損傷による頭部外傷は爆圧による損傷であることが知られており、従来の局所性／びまん性頭部外傷とは違うメカニズムによる病態である。従来とは違う新しい実験脳損傷モデルの作成が脳損傷の病態の多角的な検討に有用である。そこで、全く新しい実験脳損傷モデルを作成することを目的とした。マイクロ波照射による実験脳損傷モデルである。2.0～3.5kW/0.1sec でマイクロ波を照射し、照射前後の生理学的な変化を観察するとともに、照射後の病理学的変化の検索、及びタンパク質網羅的解析を施行した。照射前後で照射強度が最大の場合以外では有意な呼吸状態の変動は認められなかった。病理学的には Microwave 照射により脳組織に損傷がおきることが示された。3・3.5kW/0.1sec では早期から（3時間以降）で神経変性が認められた。また、照射強度が強いほど海馬 CA 細胞に早期に所見が発現した。二次元電気泳動では、タンパク質の発現がコントロール群と比較して照射群では変化が認められた。マイクロ波照射による脳損傷の病態把握にタンパク質網羅的解析が有用であることが示唆された。Microwave 照射により脳組織に損傷が起きることが示された。今後、Microwave 照射によって引き起こされる脳損傷の継時的な観察を行うとともに、本損傷の病態についてさらに詳細な検討をするため、より詳細な病理学的検索、タンパク質網羅的解析や行動実験などを用いた検討を行う必要があると考えられた。本モデルは、短時間で作成できるモデルのため、種々の検討が容易にできる簡便な脳損傷モデルとなりえる

研究成果の概要（英文）：

<Introduction> Microwave occurs when Improvised Explosive Devices was exploded. However, the effect for brain by Microwave has not been clarified.

<Objectives> To analyze pathophysiology of brain injury induced by head-focused microwave irradiation in rats.

<Materials and Methods> Under general anesthesia, S-D rats were irradiated by head-focused microwave by Microwave fixation system (Model MMW-05/ Muromachi Kikai Co., Ltd.), which were classified in three groups (3.2Kw/ 0.1sec (I), 2.6Kw/ 0.1sec (II), 2.0Kw/ 0.1sec (III), and sham group) by intensity (n=3 in each group). Vital signs were evaluated, Arterial blood gas was examined, and we checked pathologic findings by Hematoxylin-Eosin (HE) stain immediately after Microwave irradiation, post 3 hours, 6 hours, 24 hours, 72 hours, 1 weeks, and 2 weeks in each group.

<Results> Blood pressure was elevated transiently immediately after irradiation, and recovered in short period. PaO<sub>2</sub> was unchanged in post-irradiation phase, except in Group I. In HE stain, Neuron was degenerated and left out especially in cerebral cortex and hippocampus, microglia cells were accumulated in these regions. These pathological changes were observed frequently and earlier, when irradiation was intense.

<Discussion> The result was firstly reported that head-focused microwave irradiation induced brain injury in S-D rats, and this brain injury was related with intensity of microwave. Pathological change was impressive because it was occurred gradually and progressive. Further study will be required, whether this type of brain injury is similar

with traumatic brain injury, or cerebral ischemia or not, and the study of behavioral effects of microwave irradiation is necessary, especially when the intensity of irradiation was not severe.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：外傷外科学

#### 1. 研究開始当初の背景

(1) これまでの一般的な実験頭部外傷モデルは、臨床的に類似する頭部外傷モデルの作成を主眼として行われてきた。びまん性脳損傷の代表的モデルである **Fluid percussion** モデルや、局所性頭部外傷モデルである急性硬膜下血腫や脳挫傷モデルでは、1990年代を中心に多くの研究が行なわれており、モデルとしての位置づけは確立されたものの、今後、新しい知見を得る余力に乏しい。

(2) 2000年代のイラク・アフガン戦争においては、爆傷による頭部外傷が戦傷外科においてクローズアップされた。対テロ戦争という性質を帯びていたため、爆傷が戦傷の半数以上を占め、体幹防護具の発達により、体幹の損傷は軽減する一方、頭部に対する爆傷の比率が高まったためである。爆傷による頭部外傷は従来のびまん性/局所性頭部外傷の分類には属さないタイプの脳損傷が起きていることが知られている。爆傷は1次～4次に一般的に分類されるが、1次爆傷は爆圧による損傷であり、1次爆傷による頭部外傷は新しいタイプの脳損傷である。IEDと呼ばれる“簡易起爆装置”は電磁波も出すと言われている。

このような背景のもと新しい脳損傷モデルの開発は、種々の脳損傷の病態解明に有用である可能性があると考えられたため、本研究ではこれまで全く報告のないマイクロ波照射による脳損傷モデルの開発を主眼として研究を行った。

#### 2. 研究の目的

Microwave 照射による新しい実験脳損傷モデルを開発すること

#### 3. 研究の方法

##### (1) 使用動物

雄 S-D ラット (250-350g) を使用した。

##### (2) 実験方法

S-D ラットを Halothane で吸入麻酔後に、大腿動静脈にラインを確保し、バイタルサイン、血液ガス (照射前、照射直後、照射後) を測定した。

##### (3) マイクロ波照射

マイクロウェーブアプリアケータ Model MMW-05 (室町機械株式会社製) を用いて、ラット脳にマイクロ波を照射した。照射強度は、1) 2kw/0.1sec (Group III)、2) 2.5kw/0.1sec (Group II)、3) 3-3.5kw/0.1sec (Group I) の3レベルとした。

同アプリアケータ Model MMW-05 は元来、脳内物質測定時の死後変化を生じない、マイクロウェーブ瞬時照射により諸酵素を不活性化する方法として利用される機械である。マイクロ波は脳だけを照射できるような構造となっており、全脳照射を行なえる。

今回、改良された装置はマイクロ波出力を 2-5kW 可変で 0.01kW 単位で設定でき、照射時間も 0.01 秒単位で設定できるため、高い再現性が得られる装置となっており、マイクロ波照射による脳損傷モデルをはじめ可能とした機械である。

##### (4) 病理学的検索

HE 染色にて、脳組織のマイクロ波照射による病理学的変化を観察した。

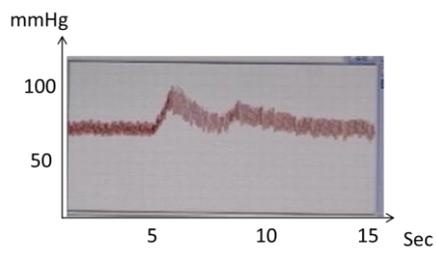
##### (5) タンパク質解析

二次元電気泳動によるタンパク質の網羅的解析を行った。

本実験は、日本医科大学動物実験委員会から承認 (23-067) を得て行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) 血圧、心拍数、血液ガス所見の変化



Microwave 照射時、血圧は一過性に上昇を認めるが、その後短時間で照射前の血圧に復した。

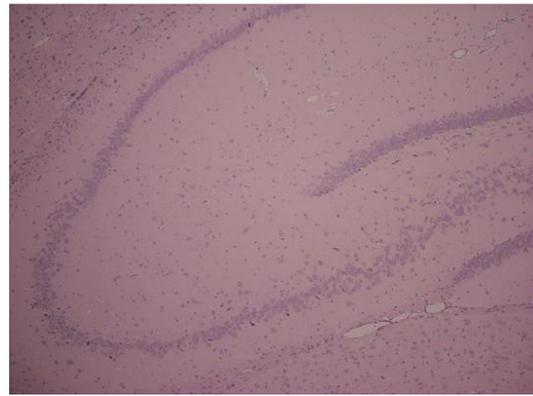
動脈血液ガス所見、Glucose、Lactate を照射前後、及び照射 10 分後に測定を行ったが、酸素や二酸化炭素濃度に有意な変化は認められなかった。

本モデルによる Vital sign の変化は軽微であり、無呼吸は認めなかった。

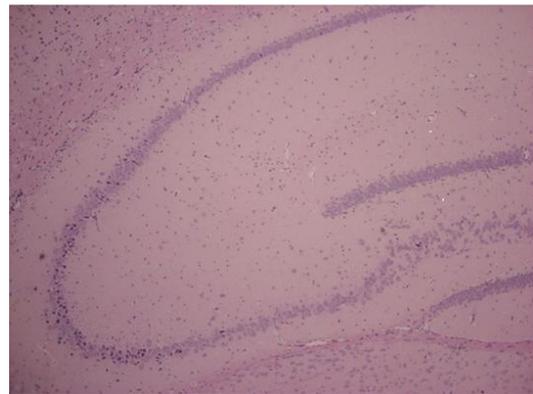
(2) 病理所見

海馬 CA 細胞を観察したところ、病理学的検索では、HE 染色で神経細胞の変性が観察され、Microwave の強度が強いほど変性が多く認められる傾向があった。

Group III 72hr



Group III 1wk



Group III 6hr



Group III

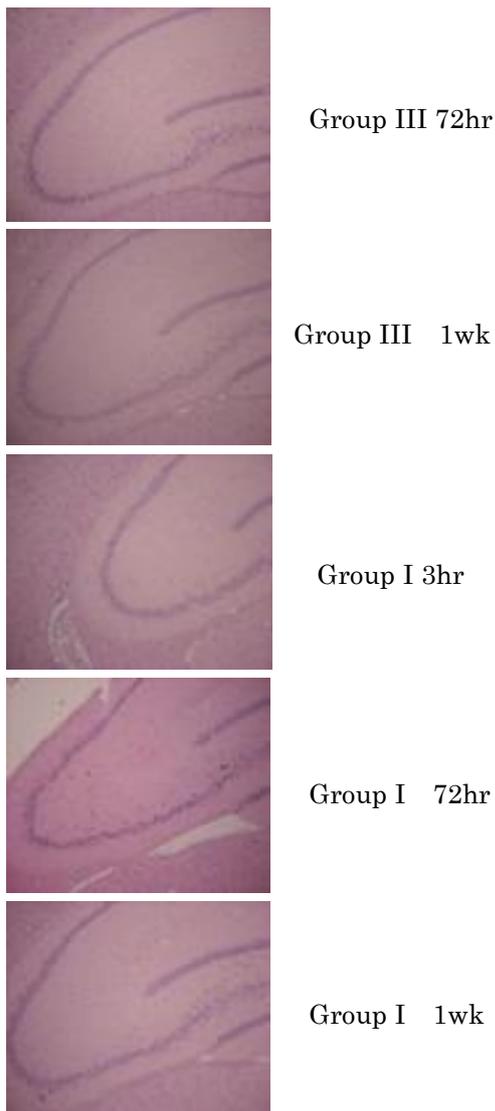


Group III 24hr



Group III 6hr



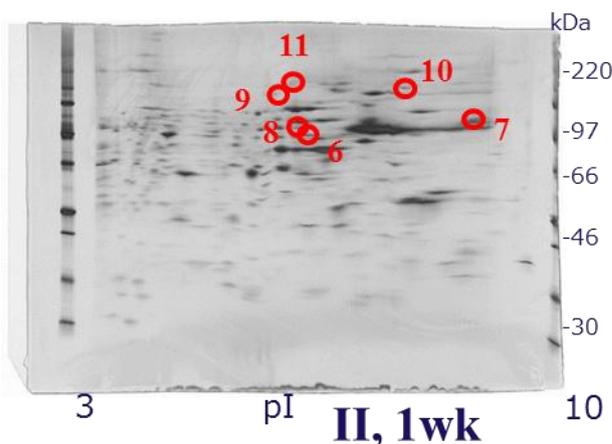
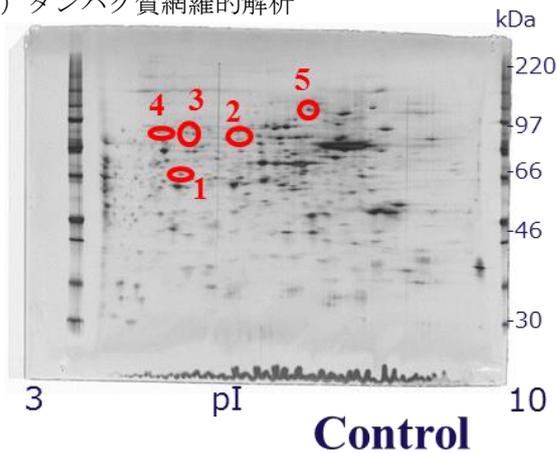


病理所見 — 照射強度 —

病理所見まとめ

- Microwave 照射により脳組織に損傷がおきることが示された
- 3-3.5kW/0.1sec では 3 時間～ で神経変性が認められた。
- 照射強度が強いほど海馬 CA 細胞に早期に所見が発現した。
  - 短時間で作成できるモデルのため、種々の検討が容易にできる簡便な脳損傷モデルとなりえることが示唆された。本モデルは Burr hole の必要性

(3) タンパク質網羅的解析



マイクロ波照射により出現に差が認められた可能性のあるタンパク質

Control	Group II 1Wk	No	Protein hits
+	-	1	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 10
+	-	2	Protein disulfide-isomerase A3
+	-	4	Dihydropyrimidinase-related protein 2
+	-	5	Transitional endoplasmic reticulum
-	+	6	<u>Glial fibrillary acidic protein</u>
-	+	7	Calreticulin
-	+	10	Endoplasmic
-	+	11	Alanyl-tRNA synthetase, cytoplasmic

二次元電気泳動では、タンパク質の発現がコントロール群と比較して照射群では変化が認められた。マイクロ波照射による脳損傷の病態把握にタンパク質網羅的解析が有用であることが示唆された。

【まとめ】

Microwave 照射により脳組織に損傷が起ることが示された。今後、Microwave 照射によって引き起こされる脳損傷の継時的な観察を行うとともに、本損傷の病態についてさらに詳細な検討をするため、より詳細な病理学的検索、タンパク質網羅的解析や行動実験

などを用いた検討を行う必要があると考えられた。

- Microwave 照射により脳組織に損傷が起きることが示された
- 短時間で作成できるモデルのため、種々の検討が容易にできる簡便な脳損傷モデルとなりえる

#### 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 1 件)

1. Akira Fuse, Masahiro Yamaguchi, Go Suzuki, Gaku Matsumoto, Hidetaka Onda, Hiroyuki Yokota. An analysis of a new model for brain injury by microwave. Neurocrit Care (2012) 17: S87.

[学会発表] (計 6 件)

1. 布施明、鈴木剛、恩田秀賢、渡邊顕弘、松本学、横田裕行. Microwave 照射による実験頭部外傷モデルの開発. 第 25 回日本外傷学会. 2011 年 5 月 20 日、堺

2. 布施明、鈴木剛、恩田秀賢、五十嵐豊、渡邊顕弘、和田剛志、松本学、増野智彦、横田裕行. Microwave-induced Brain Injury モデルの開発. 第 70 回日本脳神経外科学会総会. 2011 年 10 月 14 日、横浜

3. 布施明、鈴木剛、恩田秀賢、渡邊顕弘、和田剛志、松本学、増野智彦、横田裕行. 新しい実験頭部外傷 (Microwave-induced Brain injury) モデルの開発. 第 39 回日本救急医学会総会. 2011 年 10 月 20 日、東京

4. 布施明、鈴木剛、恩田秀賢、増野智彦、横田裕行. マイクロ波照射による実験脳損傷モデル. 第 2 回日本爆傷研究会. 2012 年 1 月 21 日、所沢

5. 布施明、山口昌紘、藤木悠、五十嵐豊、渡邊顕弘、和田剛志、鈴木剛、松本学、恩田秀賢、横田裕行. マイクロ波照射脳損傷モデルのタンパク質網羅的解析による検討. 第 71 回日本脳神経外科学会総会. 2012 年 10 月 18 日、大阪

6. 布施明、山口昌紘、鈴木剛、恩田秀賢、松本学、金史英、新井正徳、辻井厚子、増野智彦、宮内雅人、横田裕行. マイクロ波照射脳損傷モデルの二次元電気泳動による検討. 第 40 回日本救急医学会総会. 2012 年 11 月 13 日、京都

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

布施明 (FUSE AKIRA)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号 : 80238641

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
なし