

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462835

研究課題名(和文) マイクロウェーブ照射による新しい脳損傷モデルの病態解析

研究課題名(英文) Pathophysiology of microwave-induced traumatic brain injury

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：マイクロ波をラットの脳に照射した脳損傷モデルを作成し、病理組織学的に検討した。3.0kWのマイクロ波を0.1秒間照射し、照射後1,3,7,14,28日に脳を摘出し、大脳皮質運動野、海馬、側脳室脈絡膜について神経細胞数の変化とTUNEL陽性細胞の割合を計数した。側脳室脈絡膜と脳室周囲が特異的に傷害された動物モデルとして爆傷による脳損傷が報告されており、マイクロ波照射による外傷性能損傷と病理組織学的な共通点が見出された。本脳損傷モデルは、マイクロ波発生装置を用いて出力を調節し、量的に再現性の高い脳損傷モデルを作製可能で、blast injuryに類似した新しい脳損傷モデルの可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to evaluate the change in the number of neural cells and presence of apoptotic cells in rats for one month after exposure to excessive microwave radiation. The rats were exposed to 3.0 kW of microwaves for 0.1 sec and were sacrificed after exposure. The neural cells were counted in the motor cortex and hippocampus [cornu ammonis 1 (CA1) and CA2] and the percentage of positive cells stained with terminal deoxynucleo-tydyl transferase mediated deoxyuridine triphosphate nick end labeling (TUNEL) were also measured. There were no significant differences from the controls in the percentage of TUNEL positive cells in the motor cortex and hippocampus. The effects of microwave exposure on the brain remain unclear; however, microwave induced neurotrauma shows the same pathological changes as blast traumatic brain injury.

研究分野：脳蘇生、災害医療

キーワード：脳損傷 マイクロウェーブ 爆傷 実験頭部外傷 TUNEL

### 1. 研究開始当初の背景

マイクロ波は電磁波の一種であり、電子レンジや携帯電話、医療用には深部の温熱療法として広く普及している。マイクロ波が脳に与える影響について、携帯電話の発するマイクロ波が脳に及ぼす慢性の変化について、病理組織学的、生化学的、行動学的に多くの研究がなされてきた。一方で、誤って過度のマイクロ波を被曝したことによる外傷や死亡例が報告されている。高出力の被曝によって、急性期の変化が起こることは1970年代前半に報告されたが、いまだ高出力のマイクロ波照射が急性期に脳に与える影響は明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

高出力の microwave をラットの頭部に照射し、脳損傷を病理組織学的に評価する。

### 3. 研究の方法

ラットを全身麻酔下に頭部を固定し、3.0kWのマイクロ波を0.10秒間、頭部に照射した。照射24時間後(n=3)、3日後(n=3)、7日後(n=3)、14日後(n=3)、28日後(n=3)および非照射群(n=3)、脳を摘出しホルマリン固定を行った。

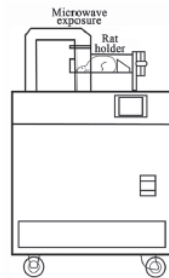


Figure 1. A microwave applicator. This was used to expose the rat brains to microwaves to inactivate all the enzymes in the brain. The head was positioned prone, fixed on a rat holder in a microwave applicator and exposed to microwaves.

脳の神経細胞数の変化を知るため H-E 染色を行い、大脳の各部位（側脳室脈絡膜、皮質運動野、海馬（CA1 および CA2））における神経細胞数を計測した。同時にアポトーシスを検出する TUNEL 法を用いて、大脳の各部位の陽性細胞の割合を計測した。側脳室脈絡膜は切片により細胞数が大きく異なるため、TUNEL による陽性細胞の割合のみ計測を行い、H-E による細胞数は計測を行わなかった。2名が計測し平均値を用いた。

### 4. 研究成果

31匹のラットにマイクロ波の照射を行い、24時間以内に6匹(18.8%)が死亡し、28日以内に15匹(48.4%)が死亡した。H-E 染色での神経細胞数の変化は、CA1 において対照群に比べ28日後に有意な減少を認めた(60.7 vs 50.6, P=0.0358)。それ以外の

部位では、対照群に比べ有意な変化は認めなかった。アポトーシスを表す TUNEL 陽性細胞の割合は、側脳室脈絡膜において、対照群が  $2.1 \pm 1.1\%$  であったが、照射1日後  $4.2 \pm 3.7\%$  ( $p=0.2191$ )、3日後  $9.2 \pm 7.9\%$  ( $p=0.0547$ ) と増加傾向を示し、7日後に  $21.8 \pm 19.1\%$  と対照群に比べて有意な増加を示した ( $p=0.0318$ )。7日後をピークに、14日後  $3.4 \pm 3.3$  ( $p=0.3928$ )、28日後  $5.1 \pm 3.4\%$  ( $p=0.0596$ ) と減少した。大脳皮質運動野、CA1、CA2 については、対照群に比べていずれの群でも有意な増加を認めなかった。

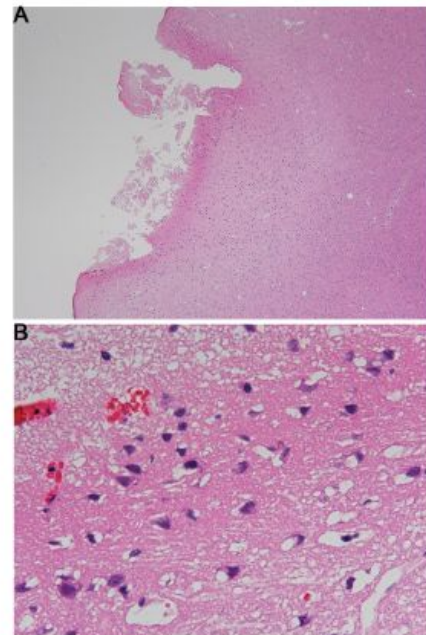


Figure 2. Pathophysiological changes following high-power microwave exposure (3.2 kW). (A) Necrotic cells in the cerebral cortex [hematoxylin and eosin (H&E); magnification,  $\times 40$ ]. (B) Degeneration and necrosis of neural cells (H&E; magnification,  $\times 600$ ).

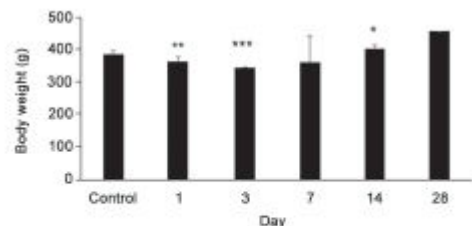


Figure 3. Body weight changes prior and subsequent to microwave exposure. The body weight significantly decreased on day 1 ( $*P=0.007$ ) and day 3 ( $***P<0.001$ ), but significantly increased on day 14 ( $*P=0.0151$ ).

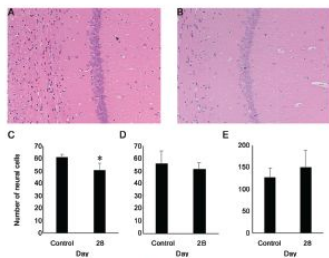


Figure 4 (A) Pathophysiological changes of CA1 between (A) control and (B) day 28 following microwave exposure (hematoxylin and eosin; magnification,  $\times 400$ ). Changes in neural cells in the (C) CA1, (D) CA2 and (E) motor cortex. \* $P < 0.05$ .

本研究ではマイクロ波の頭部照射によって、28日後にCA1の神経細胞数の減少、および7日後に側脳室脈絡膜のアポトーシスの増加を示すことが明らかとなった。

マイクロ波照射後、体表や頭蓋骨、脳表、皮質に所見が見られなかったにもかかわらず、脳深部の海馬および側脳室脈絡膜に特異的な変化を認めた。これはよく用いられる局所脳損傷およびびまん性脳損傷のモデルとは、病態が異なると考えられる。

過去のマイクロ波を用いた研究では、特に海馬はマイクロ波照射に対して傷害を受けやすいことが知られており、神経伝達物質の減少やそれが原因と考えられる記憶障害が報告されている。本研究においては、照射後28日に海馬のCA1に限局して細胞数の減少を認めた。

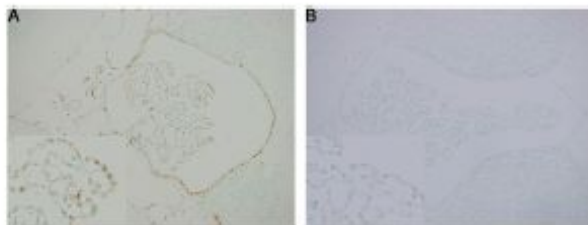


Figure 5 Proportion of the terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labeling (TUNEL)-positive cells over time in the choroid plexus. (A) Control (TUNEL; magnification,  $\times 100$ ). (B) Day 7 (TUNEL; magnification,  $\times 100$ ). (C) Changes in the percentage of the TUNEL-positive cells. \* $P < 0.05$ .

また、側脳室脈絡膜および脳室周囲を特異的に傷害する原因として爆傷が知られている。ラットを用いた爆傷モデルでは、脈絡叢の細胞および細胞間の変化や脳室周囲の血液脳関門の破壊が報告されている。本研究においても、照射後7日に側脳室脈絡叢におけるアポトーシスの有意な増加を認めた。マイクロ波照射による外傷性脳損傷は、側脳室脈絡膜と脳室周囲に特異的に傷害を起こ

すという点で爆傷と共通点を認めたが、爆傷による傷害の主体は神経細胞よりも軸索であるとする報告があるため、今後は軸索に対する評価も行う必要がある。また、本研究では、死亡率が高いにもかかわらず、脳の病理組織学的所見に乏しく、死因のさらなる解明が必要である。

## 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. YUTAKA IGARASHI, YOKO MATSUDA, AKIRA FUSE, TOSHIYUKI IISHIWATA, ZENYA NAITO and HIROYUKI YOKOTA. Pathophysiology of microwave-induced traumatic brain injury. BIOMEDICAL REPORTS 3: 468-472, 2015

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等なし

## 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

片山 映 (KATAYAMA, Akira)  
日本医科大学・医学部・助教  
研究者番号：10333113

松田 陽子 ( MATSUDA, Yoko )  
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター( 東京都健康長寿医療センター研究所 )・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員  
研究者番号 : 20363187

横田 裕行 ( YOKOTA, Hiroyuki )  
日本医科大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号 : 60182698

永野 昌俊 ( NAGANO, Masatoshi )  
日本医科大学・医学部・講師  
研究者番号 : 60271350