

機関番号：32612

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21890249

研究課題名（和文）

マウス板間静脈の発達における骨代謝と血管新生の相関

研究課題名（英文）

Correlation between the bone-remodeling and angiogenesis on the diploic vein

研究代表者

鳥海 春樹 (TORIUMI HARUKI)

慶應義塾大学・医学部・研究員（非常勤）

研究者番号：30528203

研究成果の概要（和文）：

頭蓋骨内に存在する「板間静脈」は、骨内の血管網であるにも関わらず、*in vivo*でほぼ生理的な状態の微小循環動態が観察可能な稀少部位である。このため、骨代謝研究における非常に汎用的なモデルとして活用できる可能性があるにもかかわらず、板間静脈の循環特性や形態発達についての詳細な検討やモデル化は為されていなかった。当研究では、所属研究室にて構築された脳微小循環解析系を板間静脈に適用し、その特徴的な構造発達の定量化と微小循環動態解析を実現し、広く骨代謝研究に資するモデルを確立した。

研究成果の概要（英文）：

To examine the development of the diploic veins in the calvarium, FITC-dextran was injected into the tail vein. The total area of the diploic veins showed a continuous, age-dependent development. We also measured the red blood cell (RBC) velocities in the diploic veins using an *in vivo* imaging technique and revealed RBCs with a significantly high velocity and unidirectional characteristics at the entrance route. The route passed from the basal periosteum of the cranial bone via the dura mater and into the diploic veins. Our findings indicate the existence of communications between intra- and extra-cranial circulation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,010,000	303,000	1,313,000
2010年度	890,000	267,000	1,157,000
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：神経科学・臨床鍼灸学

科研費の分科・細目：整形外科学

キーワード：板間静脈、頭頸部微小循環、骨微小循環、骨代謝、骨リモデリング、血管新生、頭痛、脳血管障害、

1. 研究開始当初の背景

板間静脈は、個体の成長に伴う骨リモデリングと血管新生が相互に関連しつつ、構造の改変を見せる非常に興味深い部位である。ヒトでは大きな個体差を持つ事が知られており、個体の骨代謝特性を形態として表現している可能性があるが、動物モデルによる板間

静脈の詳細な検討はなされていなかった。

2. 研究の目的

(1) 板間静脈は、頭蓋骨内の血管と骨腔からなる構造である。動物を使用し、板間静脈の「血管」構造を描出する実験系を確立し、成長にともなう構造変化を定量評価する。

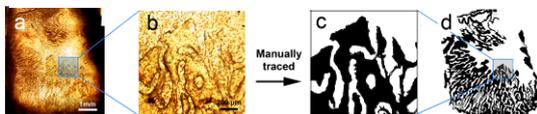
(2) 板間静脈の「骨腔」構造を描出する実験系を確立し、個体の成長にともなう構造変化を定量評価する。

(3) *in vivo*における頭蓋骨内の微小循環解析を行い、板間静脈の構造発達と微小循環特性との相関を評価する。これにより、板間静脈における骨リモデリングの様相と血管新生の相関を明らかにし、広く骨代謝研究に役立つモデル構築を行う。

3. 研究の方法

(1) 遺伝背景が均一な(近交系)マウス C57BL/6J を使用し、若齢・壮齢・老齢の3群を設定した。これらに対し麻酔下、尾静脈より蛍光ラベルした Dextran を注入し、全身に循環させた。これにより微小血管の内腔に至るまで蛍光標識を行った。この後、頭頂骨を硬膜を付着したままの状態にて採取 (Amaguri method; Toriumi et al.) し、wholemout 試料として作成した。このサンプルを共焦点レーザー顕微鏡により観察し、板間静脈の「血管構造」に対する3次元解析を行った。

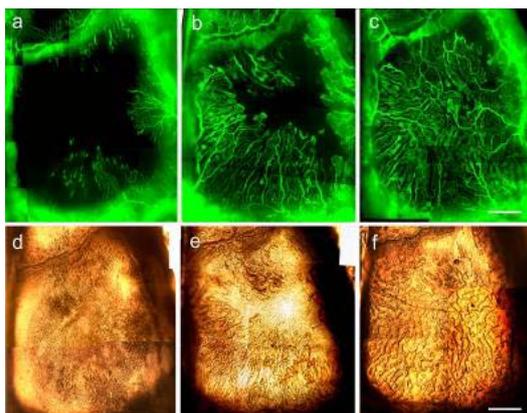
(2) 上記 Amaguri method により採取した頭蓋骨のサンプルを、透過光によって観察し、板間静脈の「骨腔構造」に対して(1)同様の構造解析を行った(下図)。



(3) C57BL/6J を使用し、麻酔下、尾静脈より蛍光標識した赤血球を血流 indicator として注入した。頭皮を処理し、頭頂骨の表面から血流 indicator の蛍光を検出し、これにより板間静脈の微小循環解析を行った。微小循環動態解析については、当研究室において確立してきた脳表微小循環解析系 (KEIO-IS2) を使用した。

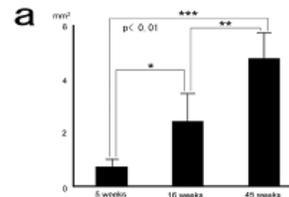
4. 研究成果

(1) 板間静脈の「血管構造」は、週齢に依

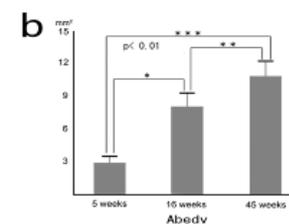


存して顕著な拡大を示すことが明らかになった(前頁図)。図左は若齢個体、中央は壮齢、右は老齢個体の左頭頂骨である。週齢にともなう静脈叢の拡大が精細に描出できた。上段は血管構造、下段は骨腔構造である。

血管構造および骨腔両者とも、その週齢にともなう拡大は推計学的にも有意さを持った発達であった



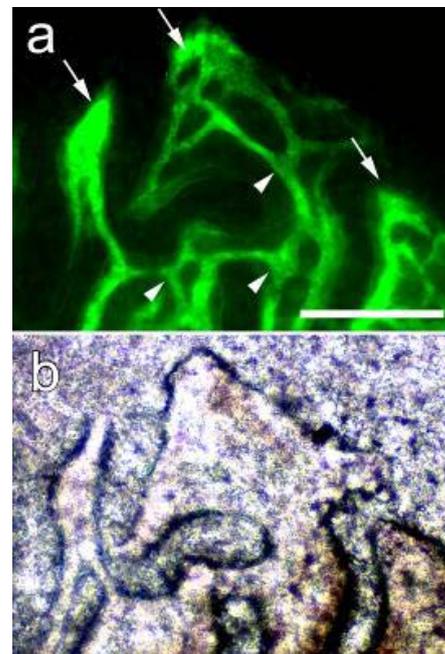
(左グラフ: a、血管構造、b、骨腔構造)。



また、血管の構造的長特長についても、週齢に依存した伸長と分枝、老齢に至って頭頂骨全域でみられる吻合など、骨の老化や代謝特性変化に係る形態変化を描出した。

(2) 板間静脈の複雑な血管構造は、完全に相同な形態に複雑化した骨腔内に収まっている事が明らかになった。

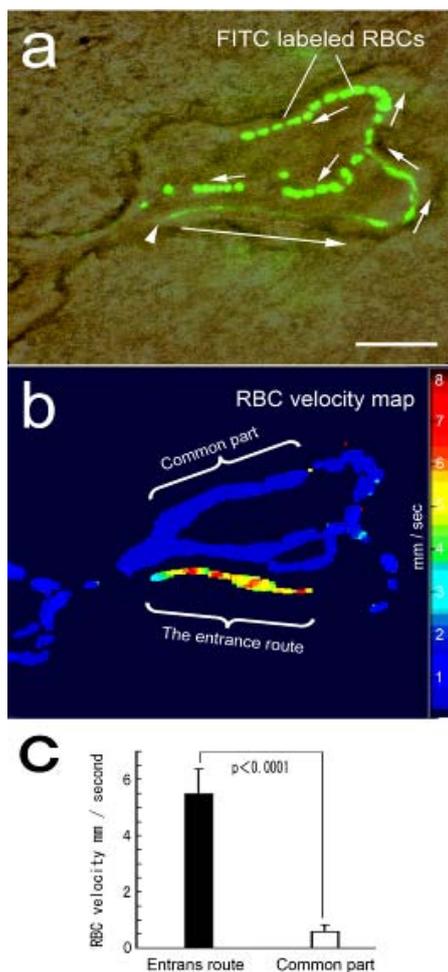
現在まで、板間静脈の構造を「血管」と「骨



腔」の両面から詳細に検討を加えたものは殆ど無かった。我々が独自の方法で血管と骨腔の特微的な形態の相同性を示したことは、板間静脈を骨リモデリングと血管新生の相関研究の有用な場として提示し得たと考える。

(上図: a, 血管構造、b, 骨腔構造)

(3) 骨内の板間静脈についての微小循環計測は、脳表微小循環計測系を改変することで十分な精度の検出を可能とした。



上図 a は、蛍光ラベルした赤血球の、板間静脈における検出画像スタックである。これを微小循環解析ソフト KEIO-IS2 により解析すると、その微小循環特性を二次元グラフィックとして描出できる (上図 b)。これは骨内の微小循環を in vivo 解析した世界初の試みである。板間静脈が、膜動脈からの細い分枝により明らかに微小循環動態の異なる血流が供給されている様相がはっきりと描出された (前頁グラフ c)。これにより、非弁性の静脈である板間静脈の血流方向について残存していた疑問に一つの回答を示した。

(4) また、硬膜動脈分枝と板間静脈の結合部位は、急激に血管口径が変化する構造であり、さらに血流速度の検出結果からも、生理的な動静脈シャント構造である事が強く示唆された。

板間静脈の特徴的な構造発達は、骨と血管両者の相互作用によるリモデリングがその主体である。これらの検討に、微小循環研究を融合させた本研究は、今後の骨代謝研究に資する重要なものとなり得たと考える。

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 5 件)

① Toriumi H, Shimizu T, Shibata M, Unekawa M, Tomita Y, Tomita M, Suzuki N Developmental and circulatory profile of the diploic veins
Microvascular Research
81 巻, P.97-102, 2011 年 (査読有)

② Tomita M, Tomita Y, Unekawa M, Toriumi H, Suzuki N
Capillary Remodeling and Collateral Growth without Angiogenesis after Unilateral Common Carotid Artery Occlusion in Mice.
Neuroimage
56 巻, P.1001-1010, 2011 年 (査読有)

③ Guo H, Itoh Y, Toriumi H, Yamada S, Tomita Y, Hoshino H, Suzuki N
Capillary Remodeling and Collateral Growth without Angiogenesis after Unilateral Common Carotid Artery Occlusion in Mice.
Microcirculation
18 巻 P.221-227, 2011 年 (査読有)

④ Itoh Y, Toriumi H, Yamada S, Hoshino H, Suzuki N
Resident endothelial cells surrounding damaged arterial endothelium reendothelialize the lesion.
Arterioscler Thromb Vasc Biol.
30 巻 P.1725-1732, 2010 年 (査読有)

⑤ Unekawa M, Tomita M, Tomita Y, Toriumi H, Miyaki K, Suzuki N
RBC velocities in single capillaries of mouse and rat brains are the same, despite 10-fold difference in body size.
Brain Research.
1320 巻 P.69-73, 2010 年 (査読有)

[学会発表] (計 3 件)

① 鳥海春樹、正本和人、富田裕、畝川美悠紀、田桑弘之、伊藤義彰、菅野巖、鈴木則宏
マウス中大脳動脈閉塞モデルにおける虚血周辺領域の微小血管およびアストロサイトの経時的形態観察
第22回日本脳循環代謝学会総会
2010/11/26~27 大阪

② 鳥海春樹、畝川美悠紀、黒井俊哉、佐藤仁、舟久保恵美、岩下達雄、小泉健三、柴田護、清水利彦、鈴木則宏
TRPV1受容体を介した三叉神経の侵害刺激がCSD発生に及ぼす影響
第38回日本頭痛学会総会
2010/11/19~20 東京

③ Toriumi H, Unekawa M, TomitaY, Shibata M, Shimizu T, Suzuki N
The circulatory profile of the diploic veins
9th World Congress for Microcirculation
2010/6/25~27 Paris, France

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鳥海 春樹 (TORIUMI HARUKI)
慶應義塾大学・医学部・研究員 (非常勤)
研究者番号 : 30528203

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

無し