

川崎医科大学 救急医学 大学院生 宮崎修平

課題番号 2006A1594

ビームライン BL28B2

課題名

血管再生医療のための高解像度型微小血管造影による 脳虚血後の新生血管の観察

【研究の意義】

我々は、脳虚血再灌流後の血管形態変化について、ラット脳虚血再灌流モデルにて生体下に SPring-8 放射光を用いて微小脳血管造影を行い血管径の変化を観察し報告してきた。

それにより、主幹動脈から軟膜動脈までの血管径の測定に成功しており、虚血再灌流後の時間的血管径の変化および、分布場所による血管径の変化の差について観察し考察を加えてきた。

しかしながら、これまでの撮影方法では主幹動脈および $20\mu\text{m}$ までの微小血管については十分に観察し得たが、穿通枝動脈および新生血管の観察については従来の装置の解像度では困難であった。

今回我々は、解像度をさらに上げることで、軟膜動脈の血管形態変化の観察を容易にすることにより、脳虚血再灌流後のペナンプラ領域における穿通枝動脈での血管径の変化を生体下で経時的に観察することが出来、それにより脳虚血再灌流後のペナンプラ領域での新生血管の造成や、血流変化のメカニズムについての重要な現象確認が可能であると考えます。

すなわちこの方法は人為的脳虚血という組織損傷による幹細胞の生理的な反応を確認し、次いで幹細胞の補充について検討する知見を得ることが目的であり、再生医療の現象確認に位置する重要な基礎的研究である。

【目的】

ラット脳塞栓モデルを用いて、虚血後の血管構築の変化及び、新生血管の発生過程を SPring-8 放射光を用いて生体下で行い、血管径が $10\mu\text{m}$ レベル以下の虚血による組織損傷部位の軟膜動脈を観察する。これにより、ペナンプラ領域における組織修復再生過程における血管形態変化を捉え、微小循環の変化として評価する。

【方法】

一過性脳虚血モデル；雄の WISTAR ラット (250~300g)、イソフルレン吸入による全身麻酔下にて頸部正中切開を加え、左総頸動脈を露出し結紮。次いで内頸動脈分岐部より 4-0 モノフィラメントナイロン糸を 12.6 mm 挿入し留置することにより、左中大脳動脈分岐部を閉塞した。120 分後にナイロン糸を抜去し、中大脳領域の虚血後再灌流を行った。その後、創を閉鎖し虚血再灌流モデルを作成した。

再灌流後 7 日、14 日、21 日、28 日後に Spring-8 にて、ペントバルビタールで全身麻酔後、マスキュラックス投与にて無道化を行い、気管切開を加え人工呼吸管理とした。その後右総頸動脈より PE-50 カテーテルを留置し、そこから非ヨード造影剤を注入し、微小脳血管造影を行った。撮影中は左大腿動脈より A-line を留置し、持続的に血圧を監視した。

撮影条件として、単色 X 線に対して被写体、画像検出器の順で配置した実験系を用いる。放射光をシリコン 〈111〉 面の一結晶分光器で単色化し、ヨウ素造影剤に対応した 33.2KeV の X 線を作り出し、スリットで 4.5mm 角のビーム断面サイズに設定する。検出器である X 線サチコンカメラの視野をズームモードで 4.5mm 角とすると、1 画素のサイズは 1024 × 1024 画素モードで 4.5 μm となる。これにより内径 10 μm 以下の血管の画像化を目指した。

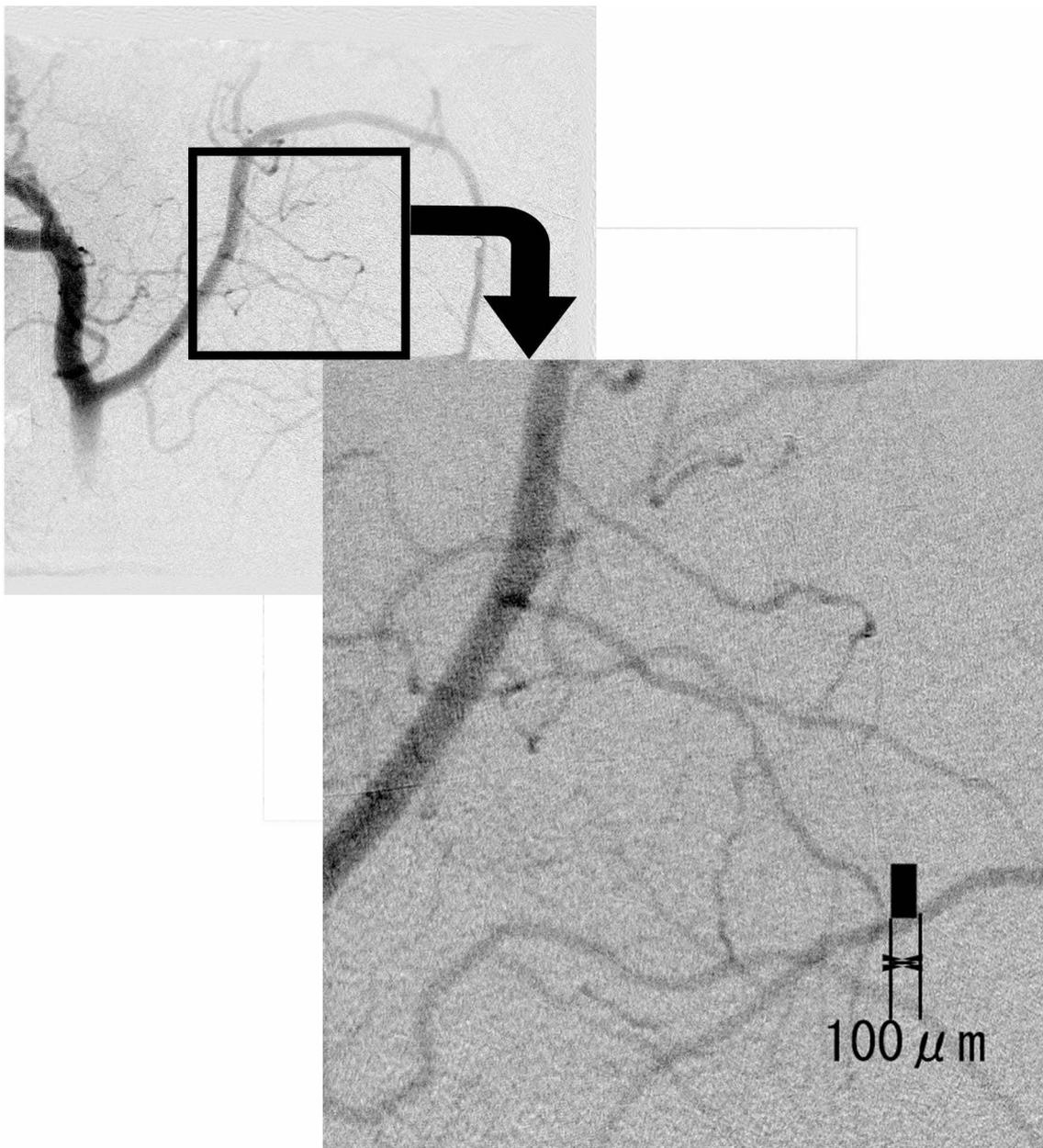
造影後は素早く断頭して脳組織を取り出し、ホルマリンにて固定し、梗塞範囲を HE 染色にて確認した。

【Result】

主幹動脈から軟膜動脈まで任意の場所で血管径を測定、評価を行った。血管径の測定により、再還流後 3 日では患側脳血管が健側に比べ中大脳動脈、穿通動脈はともに細い状態であったがその比率に大きな差は認められなかった、7 日後には中大脳動脈で狭窄が認められたのに比べ穿通動脈領域では拡張が認められた。21 日以降では中大脳動脈には大きな差は認められなかったが、穿通動脈では再び患側の狭窄が認められた。また拡大率の増加等により、これまで観察が困難であった 10 μm 台の微小血管についても十分に評価できるレベルであり、今回の測定では、13 μm の血管について測定することが可能であった。

(表 1)

日数	健側MCA 近位	患側MCA 近位	健側MCA 遠位	患側MCA 遠位	健側穿通動脈	患側穿通動脈
3	224	268	275	92	98	63
3	231	203	161	126	91	77
7	245	217	63	98	63	42
7	196	133	154	98	63	126
7	217	196	147	126	84	84
7	238	217	189	112	49	84
14	273	217	140	105	140	98
14	329	254	63	161	119	77
21	238	175	105	105	98	21
21	161	140	133	126	63	49
21	392	238	119	70	133	56
28	336	182	161	56	49	42
28	266	224	175	126	91	49
28	294	254	70	119	105	63
28	217	196	147	140	91	63



(Fig.1)

Conclusion

SPring-8 単色放射光により、脳虚血再灌流後の亜急性期から慢性期にかけての血管の形態的变化を観察した。

今回の主幹動脈から軟膜動脈までの血管の観察では、脳虚血再灌流後に亜急性期から慢性期にかけて引き起こされる脳浮腫や、脳細胞死による萎縮の影響によると考えられる血管の形態変化を同一個体で同時に観察することが出来た。

このモデルでは、脳虚血のコアおよびペナンプラ領域の部位による血管形態変化の差を同

一個体で同時に観察できるため、SPECTを用いた血流測定と併用することにより、虚血再灌流後の回復期におけるコアやペナンプラにおける血管新生を含む血流変化を連続的に観察することが可能であると考え。これらの観察は脳虚血後治療における血流再開療法や将来の脳神経幹細胞移植などの再生医療における現象確認を行う際有用であると考え。

また、解像度をこれまでの1024×1024画素モードで7 μ mから1024×1024画素モードで4.5 μ mへとアップさせたことにより、これまでは観察は可能であっても計測し評価を行うには解像度が不十分であった10—15 μ mの血管についても、血管径の測定を行うことが可能となった。

このモデルでの血管形態の観察は、これまで脳全体での観察が困難であった脳虚血後治療における薬剤治療の血管に対する反応性の観察に有用であると考え。