

水頭症モデルラットにおける 14C-Acetate を用いたグリア細胞機能障害の解析

研究代表者： 荒井大志（脳脊髄神経外科・助教）

共同研究者： 根石拓行（脳脊髄神経外科・医員）、森哲也（高エネルギーセンター・助教）

概 要	本研究の目的は、正常圧水頭症モデルラットを 14C-Acetate をトレーサーとした Autoradiography により解析し、認知症に関わる脳の新たな機能領域を同定することである。超高齢社会の本邦においては認知症が大きな社会問題となっているが、正常圧水頭症は髄液シャント術により認知症が改善する機能的疾患として注目されている。本研究により新たな認知症の発症メカニズムが解明され、認知症治療全体に大きく寄与することが期待される。
関連キーワード	正常圧水頭症、脳室拡大、水頭症モデルラット、14C-Acetate (C-A)、Autoradiography

研究の背景および目的

正常圧水頭症は、認知障害・歩行障害・尿失禁を 3 徴候とした疾患である。シャント手術という脳脊髄液を腹腔へ逃がすチューブを埋め込む手術を施行することで 3 徴候が改善する。ただ、その 3 徴候が起こる原因部位は証明されていない。

大孔からカオリン懸濁液を注入する方法で作成する閉塞性水頭症のモデルが、従来水頭症モデルラットとして研究に利用されてきた。しかし、このモデルは 3 週間で 90%以上が死亡するため、正常圧水頭症のモデルとしては不適切であった。そこで我々は慢性交通性水頭症の作成を試行し、今まで 1 論文しか報告がない交通性水頭症ラットモデルの作成に成功している。

昨年度まで脳の代謝機能を画像化する Tracer として 14C-Fluoroacetate (C-FA) を用いて水頭症モデルラットの脳代謝を解析する共同研究を行ってきたが、結果として C-FA の脳への取り込み量が低く、脳の解剖構造の各々での評価が困難であった。この結果より昨年度より Tracer を 14C-Acetate (C-A) に変更し、引き続き水頭症における脳の代謝活性の変化を調べることで、正常圧水頭症の病態・症状の原因病巣の同定のための研究を行っていく。

研究の内容および成果

研究の方法および内容は以下の通りである。

① 水頭症モデルラットの作成

SD ラットにおいて側脳室穿刺にて 10%カオリン懸濁液を 60 μ L 注入することで水頭症モデルを作成する。対象群は同部位に同量の生理食塩水を注入する。同時に MRI 撮影を行い、脳室拡大の程度を Evans ratio (Monro 孔のスライスで側脳室前角の最大幅/脳の最大幅) で評価する。

② Morris water maze test (MMT) 及び体重

認知機能・運動機能の障害の程度を測るために行う。直径 2m の水槽に直径 10 cm のプラットホームを置き、プラットホームに到達するまでのタイムを計測する。4 回連続測定し、そのタイムの変化で学習能力を測定。2 週間後に再度行うことで記憶能力の測定を行う。同時に体重測定も行う。1 回目の結果を 1 として増加・減少率で比較検討を行う。

③ C-A 実験

モデルを作成後 4 週間で Tracer 実験を施行する。大腿静脈をカニューレーションし、静脈より事前にエタノールを揮発させた C-A を注入する。C-A 投与後 1 時間で断頭し脳を摘出し、ドライアイスヘキサン法にて脳の凍結切片を作成する。Imaging plate に並べ、36 時間曝射し、Autoradiography を行う。

④ 画像データの解析

Autoradiography にて採取した画像データを解析する。

MRI での結果は Evans ratio が 2W、4W、6W ともに $P < 0.001$ で Sham に比べて水頭症モデルで大きく、有意に脳室が拡大している結果であった。体重は Sham に比べて 2W ($P = 0.052$)、4W ($P = 0.028$)、6W ($P = 0.006$) と 4 週間以降で Sham と比べて水頭症モデルにおいて体重が低い結果となった。MMMT では 1 回目 ($P = 0.13$)、2 回目 ($P = 0.048$)、3 回目 ($P = 0.008$) と 3 回目以降での学習能力が Sham に比べて水頭症モデルで劣っている結果となった。

C-A 実験では脳への取り込みが C-FA に比べて高く、脳の解剖ごとの取り込み量を同定することが可能であった。C-FA での実験で得られた海馬領域の代謝の低下を C-A においても証明できるか、また他の領域に代謝の変化があるのか、結果を集めて解析していきたい。

本助成による主な発表論文等、特記事項および 競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「主な発表論文等」

今回得た情報を論文にまとめた上で脳神経外科の国内や海外の学会にて公表する予定である。

「特記事項」

正常圧水頭症ラットモデルを作成でき、RI 実験の実験系は確立している。是非この技術を生かしてライフサイクル医学に貢献できる結果を得たい。さらにこの研究を開始することで、次年度の科学研究費へ発展するものとしたい。

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

助成組織・助成制度・種目・期間・研究課題・代表/分担・採否・採択金額など
なし