

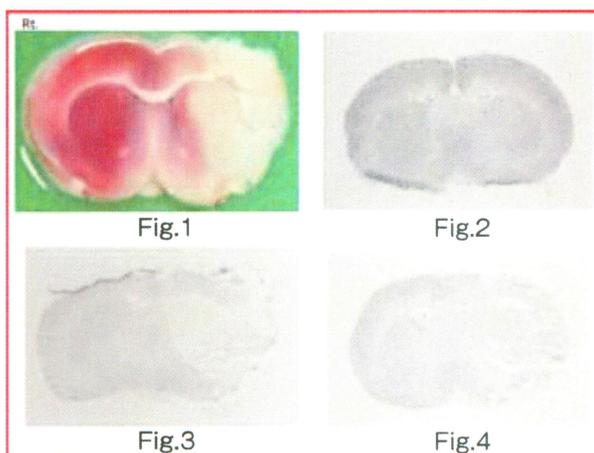
18) ラット脳虚血モデルにおける脳内への薬物直接投与の有効性について～Ⅱ

研究代表者 佐藤 正夫

脳梗塞の急性期治療は、通常経静脈的に薬物投与を行うが、時に血流再開を目的に動脈経由で行う場合もある。しかし、血流が再開されずに循環障害をきたしている領域には薬物が到達せず、これらの領域はいずれ脳梗塞を呈する。そこで、脳梗塞に陥る前に、脳保護薬を脳虚血ペナンプラ領域に直接投与することで脳梗塞巣の体積縮小効果が得られることを前号において示した。今回は、脳梗塞巣の縮小効果を、¹⁴C-deoxyglucose を用いた autoradiogram にて確認することを目的とした。

成熟 Wister ラット (345 - 390g) を用いて実験を行った。脳内に投与する薬物は、前号同様現在臨床で脳梗塞治療に使用されている脳保護薬エダラボンを使用した。脳梗塞を作成した後エダラボンを直接注入したが、手技については前号同様、ハロセン麻酔下に左開頭を行い左中大脳動脈を選択的に凝固・切離し、左中大脳動脈切離 30 分後に脳虚血ペナンプラ領域にエダラボン 1 μ l (6mg/ml の濃度で pH7.2 に調整

し 1 μ g/ μ l とした) を定位脳装置を用いて 1 回のみ注入した (注入部は bregma より左方 4.5mm、深さ 2.0mm)。脳梗塞巣の糖代謝をみるため、脳梗塞発症 24 時間後に RI(¹⁴C-deoxyglucose) を注入した。脳を摘出すべく、事前にハロセン麻酔下に右大腿動脈・静脈にそれぞれマイクロチューブを挿入した後、下半身を石膏を用いて台座上に固定した。脳梗塞作成時より絶食とし、RI (1 個体あたり 825mBq の ¹⁴C-deoxyglucose) を生理的食塩水にて希釈して 1ml としたものを大腿静脈より注入した。注入して 2 分後、3 分後、5 分後、10 分後、15 分後、20 分後、25 分後、30 分後、35 分後、45 分後と RI カウント及び血糖値測定に用いる血液を大腿動脈より採取した。45 分後の血液採取を終了後断頭し、摘出脳を - 20℃ にて保存した。摘出脳をクライオスタットを用いて 20 μ m ごとに切片をつくり、200 μ m ごとにカバーガラス上にスライスした切片を設置した。嗅球先端部を除いた大脳半球から脳幹部 (橋) まで切片が載ったカバーガラスを台紙上に固定し 7 日間かけて高感度フィルムを用いて感光させた。フィルム現像後、画像解析装置を用いて糖代謝を評価した。2% TTC 溶液にて脳梗塞巣の範囲を示したもの (Fig. 1) と autoradiogram を行った正常脳 (Fig. 2)、脳梗塞 (ラジカット未使用) 例 (Fig. 3)、ラジカット有効例 (Fig. 4) を以下に示す。Autoradiography においては、糖代謝が残存している箇所はグレーの領域として描出し代謝の低下とともに色調が薄くなっている。摘出脳の凍結に際し、脳梗塞が完成している領域は脳浮腫により膨化し、一部組織の融解がはじまるため、切片作成時には凍結した水分の乾燥化により空洞化していた (Fig. 3 及び Fig. 4)。



ラジカット有効例 (Fig. 4) は、脳梗塞を生じていない正常脳 (Fig. 2) と比べると、糖代謝が保たれている領域は少ないものの、2% TCC 溶液にて確認した左中大脳動脈閉塞による脳梗塞巣 (Fig. 1) と比べ、糖代謝が保たれている領域が明らかに広く存在していた。脳梗塞コントロール群との差は、現在実験継続中にて統計処理を行える個体数となっていないが、ラジカット使用群は、本来脳梗塞となるべき大脳皮質の 30% 以上が正常脳の糖代謝に近い状態となっていて、大脳基底核部においても同様の傾向であった。今後も実験を継続し、脳保護薬の脳内直接投与の有効性を示していきたい。