

Title	ISCHEMIA-INDUCED DISTURBANCE OF NEURONAL NETWORK FUNCTION IN THE RAT SPINAL CORD ANALYZED BY VOLTAGE-IMAGING
Sub Title	虚血負荷によるラット脊髄神経回路網機能障害に関する膜電位イメージング解析
Author	福田, 健太郎
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.3 (2006. 9) ,p.11-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060902-0011">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060902-0011</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# ISCHEMIA-INDUCED DISTURBANCE OF NEURONAL NETWORK FUNCTION IN THE RAT SPINAL CORD ANALYZED BY VOLTAGE-IMAGING

(虚血負荷によるラット脊髄神経回路網機能障害に関する膜電位イメージング解析)

福田 健太郎

## 内容の要旨

脊髄循環障害による虚血が惹起する髄内神経活動の障害は脊髄病態生理学上の重要な問題であるが、その発生メカニズムはニューロンネットワークレベルではほとんど解明されていない。脊髄内の神経活動は、多数の神経細胞間の複雑な相互作用により形成されるため、その病態をニューロンネットワークレベルで解明するためには髄内神経活動の多点同時解析が必要である。そこで本研究では膜電位感受性色素を用いた光計測法によって、ラット脊髄における急性の虚血、低酸素および低グルコース負荷の影響についてのイメージング解析を行った。

幼若ラット頸髄スライス標本を対象とした。虚血、低酸素、低グルコースの各負荷は、それぞれ酸素およびグルコース、酸素のみ、あるいはグルコースのみを灌流人工脳脊髄液から除して行った。脊髄後根の電気刺激により後角内に興奮が伝播したが、これはシナプス前性興奮すなわちfast component (FC) と、シナプス後性興奮すなわちslow component (SC) とから形成されていた。虚血負荷によりSCはFCに比べて有意に抑制された ( $P < 0.0002$ )。lamina III-IVではlamina I-IIに比べて早期にシナプス後性興奮が抑制された。一方、神経線維は虚血に対して耐性を示した。後角内においてはFCが十分に残存していれば、たとえSCが低下していてもその抑制は可逆的であった。FCの抑制が虚血負荷前の20%以下の群と20%以上抑制された群とでは虚血解除後のSCの大きさに有意差を認めた ( $P < 0.05$ )。長時間の虚血負荷によりSCはほぼ消失し、FCも虚血負荷前の $59 \pm 8\%$ まで低下し、組織学的には細胞死が認められた。低酸素および低グルコース負荷による神経活動の障害は虚血によるそれと比較すると軽度であった。長時間の虚血負荷は前角内においては運動神経細胞の細胞死を伴い、前根の逆行性電気刺激による神経興奮の障害をきたした。免疫組織染色ではこれらの細胞死にアポトーシスの所見は確認できなかった。

今回、虚血、低酸素、低グルコースの各負荷による脊髄神経活動への影響について、膜電位イメージング法を応用することにより、脊髄内部のニューロンネットワークレベルで時間的空間的な障害パターンを解析することに初めて成功した。これらの負荷により後角内では、シナプス伝達が、特に深層において早期に抑制されることが判明した。このようなシナプス伝達抑制は可逆的であったが、より高度な虚血負荷ではシナプス前性興奮の抑制を伴い神経細胞の細胞死に至る不可逆的な機能障害が起こることが明らかとなった。前角内においても虚血負荷に伴って運動神経細胞の細胞死に至る不可逆的な機能障害が負荷後20分目以降に急激に発生した。本研究の成果は様々な虚血性脊髄機能障害の病態生理学的メカニズムの解析にあたり有用な基礎的知見を示唆するものと考えられた。

## 論文審査の要旨

虚血による脊髄機能障害の病態生理機構を神経回路網レベルで解明するためには、多数の神経細胞間の複雑な相互作用により形成される髄内神経活動の多点同時解析が必要である。本研究では膜電位感受性色素を用いた光計測法により、脊髄における虚血、低酸素および低グルコース負荷の影響についての動画像解析を行った。脊髄後根刺激により後角内に伝播する興奮は、シナプス前性のfast component (FC) と、シナプス後性のslow component (SC) とから形成されていた。虚血負荷によりSCはFCに比べて有意に抑制され、まずシナプス伝達障害が起こると考えられた。FCが十分に残存していれば、SCが低下していてもその抑制は可逆的であった。後角深層では浅層に比べてより早期にSCが抑制された。一方、神経線維は虚血に対して耐性を示した。長時間の虚血負荷によりFCも著しく抑制されると不可逆的な機能障害が起こり、組織学的には細胞死が認められた。低酸素および低グルコース負荷による障害は虚血によるそれと比較すると軽度で可逆的であった。前角では長時間の虚血負荷により運動神経の細胞死を伴った興奮の障害をきたした。免疫組織染色ではこれらの細胞死にアポトーシスの所見は確認できなかった。以上、虚血負荷による脊髄神経活動への影響について、神経回路網レベルで時間的空間的な障害パターンを解析することに初めて成功した。

審査では、まず後角内でも部位により虚血の影響が異なる理由について質問がなされた。これに対して、二次ニューロンの特性による違いのほか、深層では浅層よりも多くのシナプスを介していることも関与しているであろうと回答された。次に髄内の血流分布による違いは検討できないのかとの質問がなされた。これに対して、本研究は抽出脊髄の灌流標本によるものであり不可能であると回答された。次に、標本が $800-1000\mu\text{m}$ と厚いが、深層部で細胞死が見られたのはこのためではないのかとの質問がなされた。これに対して、前根後根を完全に付着した1髄節分のスライスであるため標本は厚くなるが、観察領域は断面から $5-200\mu\text{m}$ 程度の表面灌流で酸素供給可能な部位であり、ここでいう深層部とは後角内の背側からの深層部であること、対照標本では細胞死が見られなかったことから虚血負荷によるものと考えられると回答された。さらに虚血負荷について、酸素とグルコースとを除くことによってなされているが、実際の虚血は循環不全によるものであり、あくまで環境変化による本研究の結果を*in vivo*での虚血による機能障害に反映させるには注意が必要であるとの指摘がなされた。

以上のように、本研究はなお検討すべき課題を残しているものの、虚血負荷モデルにおける脊髄神経回路網機能障害の過程を初めて動画像として解析し得た点で有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 整形外科学 戸山 芳昭  
解剖学 仲嶋 一範 内科学 鈴木 則宏  
生理学 柚崎 通介  
学力確認担当者: 池田 康夫、仲嶋 一範  
審査委員長: 仲嶋 一範

試問日: 平成18年6月27日