

## 815 ラット線条体脳出血モデルの自然経過について

## — 大脳皮質運動野でのニューロン樹状突起の変化に着目して —

石田和人<sup>1)</sup>, 須原あかね<sup>1)</sup>, 溝口育美<sup>2)</sup>, 新美佳子<sup>3)</sup>, 森川由紀子<sup>4)</sup>, 小林邦彦<sup>1)</sup>, 猪田邦雄 (MD)<sup>1)</sup>

1) 名古屋大学医学部保健学科, 2) 医療法人祐生会みどりヶ丘病院, 3) 偕行会リハビリテーション病院, 4) 総合上飯田第一病院

**key words** 脳出血モデル・Golgi-Cox 染色・樹状突起

## 【目的】

ラット線条体にコラゲナーゼを注入することにより中大脳動脈領域の障害を伴う脳内出血に類似したモデルが作成できる。我々は本モデルの運動機能と組織学的な見地から脳障害の病態を時間経過とともに調べ、今後このデータを元に、運動刺激(理学療法)が、本モデルの機能改善効果を導き得るか否か、またはその効果機序の解明を目指したいと考えている。今回は、運動機能および脳組織の形態観察を行い、特に大脳皮質運動野錐体細胞の樹状突起の変化に着目した。

## 【方法】

Wistar系雄ラット(8週齢、250~280g)を用いた。Rosenbergらの方法(Stroke 21: 801)に準じて、深麻酔下で頭蓋骨に小穴を開け、左線条体にコラゲナーゼ(200 U/ml)を1.4  $\mu$ l (0.2  $\mu$ l/分、7分間)注入し、脳出血モデルを作成した(脳出血群)。一方、対照群として同部位に生理食塩水1.4  $\mu$ lを注入した。手術後4週間、Del Bigioらの方法(Stroke 27: 2312)で、行動評価(自発回転、後肢反射、前肢把握、棒上歩行)を実施した。各項目は、0(正常)~3(重度の麻痺)点の4段階で判定され合計点数の推移を調べた。注入から1, 2, 4週後には、深麻酔下にて脳を灌流固定し凍結切片(厚さ50  $\mu$ m)を作成しH-E染色に供した。また別のラットを2, 4週後、深麻酔下

で生理食塩水の灌流(脱血)を行い、脳組織の凍結切片(厚さ200  $\mu$ m)を作成して、Golgi-Cox染色に供した。この像をパソコンに取り込み、左右(注入側および非注入側)大脳皮質運動野の第IIIおよび第V層錐体細胞について、先頂樹状突起の長さ測定と樹状突起の複雑さを定量化するため、細胞体より半径20および40  $\mu$ mの円を描き、これと交差する樹状突起の数を求めた。

## 【結果および考察】

脳出血群の行動評価の合計点数は、1~2週以内に大きく減少(機能回復)し、その後はそれほど変化しなかった。H-E染色像では、術後1, 2週で、注入側線条体の中心部に壊死巣がみられ、その周囲には炎症性細胞の浸潤、脳室の拡大がみられた。また、4週では壊死巣の組織が消失し、空洞化していた。Golgi-Cox染色による運動野樹状突起の観察においては、注入後2~4週で、非注入側樹状突起の複雑化が認められた。しかし、先頂樹状突起の長さには差がなかった。行動評価では、モデル作成後、2週において機能回復を認めたが、H-E染色による組織学的変化では、機能回復を反映する所見はなかった。しかし、Golgi-Cox染色による非注入側運動野で樹状突起の複雑化が認められたことから、本染色法は、脳機能の回復を反映する組織学的データとして、シナプスの可塑性変化の観点から注目されるものと考えられる。

## 816 骨格筋の神経-筋標本における神経-筋接合部の可塑性について

石井禎基<sup>1)</sup>, 和足孝之<sup>1)</sup>, 土屋禎三<sup>2)</sup>

1) 神戸大学大学院自然科学研究科, 2) 神戸大学理学部生物学教室

**key words** 神経-筋標本・張力増強・ストレッチ

【はじめに】我々は、骨格筋の神経-筋標本における張力増強現象を通して神経-筋接合部の可塑性について報告してきた。まず、神経-筋接合部の興奮伝達には温度依存性があること、また急速な伸長を標本に与えると神経-筋接合部の興奮伝達効率が高くなることなどを報告した。しかしながら、これらの要因に神経伝導が低温により遮断される可能性および筋伸張により筋線維自体が活性化される可能性があることも否定できない。そこで本研究では、神経線維群と筋線維群より活動電位の測定および標本の長さ-張力関係の測定を行い、これらの可能性について検討した。

【対象と方法】ダルマガエル(*Rana brevipoda*)より大腿二頭筋(m. iliofibularis)全筋の神経-筋標本を作成した。標本の取り付け、筋の張力測定および急速伸長は前回と同様の方法で行った。神経線維群と筋線維群の電位変化を、神経では内径0.35mm、筋では内径0.8mmの先端径が比較的大きい吸引電極を用いて測定した。標本に神経刺激(刺激時間30  $\mu$ s)を与え、4℃の温度条件下にて急速伸長前後で神経および筋の活動電位を比較した。また温度条件2℃および22℃の神経活動電位を測定しその大きさを比較した。さらに、筋長を変化させたときの直接刺激(刺激時間1ms)による強縮張力(25Hz)を4℃で測定した。なお、研究に際しては大学の「動物実験に関する指針」に従った。

【結果】筋標本の直接刺激による単収縮において伸長による張力変化は、大腿二頭筋の長さ-張力関係と一致していた。神経-筋標本を用いた結果(前回発表)では、低温において神経刺激による単収縮張力が著しく低下した; 22℃=2.82mN/mm<sup>2</sup>、4℃=0.45mN/mm<sup>2</sup>、その張力比(22℃/4℃)は6.27 ( $Q_{10}$ =~2.50)。しかし、神経線維群の活動電位振幅を22℃と2℃で比較すると、その比(22℃:2℃)は1.58±0.31 (n=8) ( $Q_{10}$ =1.25±0.13)であった。また、神経-筋標本を用いた電位測定では、神経線維群の活動電位振幅は伸長前後で変化は認められなかったが、筋線維群のそれは伸長前よりも伸長後のほうが大きかった。

【考察】神経興奮伝導は $Q_{10}$ =~1.3であり温度依存性が小さいことを示している。これは低温においても興奮伝導性はほとんど遮断されていないことを示唆している。低温における張力低下( $Q_{10}$ =~2.50)は神経由来の現象ではなく神経-筋接合部の問題と考えられる。また、前回の結果の長さ-単収縮張力関係が長さ-張力関係と一致したことにより筋伸長による筋線維の活性化はほとんど生じていない。これらの結果より筋の活動電位が伸長後に増加した要因は、低温で抑制されていた神経-筋接合部の刺激伝達が筋伸長により促進され、その程度が大きくなるに従って単収縮に動員された筋線維数が増加したことを示している。