

論文の内容の要旨

論文題目

Hyperacute Electrophysiological Changes Surrounding an Infarcted Cortex: An *In Vivo* Investigation from Adaptive Plasticity

(超急性期における大脳皮質梗塞部位周辺の電気生理学的変化について:
adaptive plasticity の観点から)

氏名 藤岡 裕士

本論文は脳卒中の基礎研究であり、大脳皮質梗塞部位周辺に生じる hyperexcitability 現象が adaptive plasticity であることを明らかにすることを目的とする。本論文は全6章で、第1部および第2部から構成される。

脳梗塞部位周辺においてニューロンの興奮性の増加 (hyperexcitability 現象) が観察される。現在この現象のメカニズムとして示唆されているのが、deafferentation (求心性神経ネットワークの切断) である。この枠組みが支持されれば、hyperexcitability 現象が脳梗塞後に生じる adaptive plasticity に寄与していることを意味するため、臨床状極めて重要な課題であるが、今のところ明確な結論は出ていない。この枠組みを肯定する上で決定的に重要なのが、1. 抑制性解除に伴う hyperexcitability 現象が梗塞後すぐに生じるのかどうか、2. hyperexcitability 現象に伴い受容野の拡大がすぐに生じるのかどうか、そして、3. 受容野の拡大が急速に生じるとすれば、それが浅い層で生じているのかどうか、の3つの点である。本研究はこの3点を明らかにすることで、hyperexcitability 現象が adaptive plasticity かどうかを明らかにすることを目的とした。

第1章は緒論であり、本研究の行われた背景と目的を述べた。

第2章では、当実験系で対象とするラット第1次体性感覚野 (SI) の FBS 領域のユニットと受容野の特性を調べた。Carbon fiber 電極を用いた single unit 計測により、FBS 領域内における各表現におけるユニットと受容野の対応を始めて示すことができた。具体的には、FBS 領域の各部位において FAI, FAII, proprioception, motor のユニットが観察されること、またそれらの各ユニットにおける受容野の特性がそれぞれ異なっていることが示された。FAI unit は受容野が比較的小さく、受容野の中心が明確であった。機械刺激に対して数発のスパイク反応を生じた。FAII unit は受容野

が大きく、受容野の中心は存在するものの、境界部との違いは明確ではなかった。機械刺激に対し 1 発のスパイクを生じた。Proprioception は関節部位に存在し、受容野は小さく、また受容野の中心は明確であった。機械刺激に対し数発のスパイク反応を生じた。また他の体性感覚野との最も大きな違いとして、SA unit が存在しないことが明らかになった。

第 3 章では、ラット前肢を走行する尺骨神経を直接電気刺激することによる FBS 領域での反応特性を調べた。まず single-pulse による電気刺激では、これまで明らかでなかった尺骨神経の中枢側での対応を電気生理学的に明らかにすることができた。具体的には、第 4, 5 指および小指球との対応が電気生理学的に示された。これは切片の CO 染色でも確認された。また、反応潜時, amplitude, 受容野とも安定した記録がとれることが確認された。

次に paired-pulse による電気刺激に対する応答を、皮質表面および皮質内で調べた。また volume conduction の影響を排除し、正確な電流源を追跡するため laminar recording の結果をもとに CSD 解析を行った。

この結果、surface recording では、刺激間間隔が 150ms と 200ms で paired-pulse facilitation (PPF) が統計的に有意に生じ (それぞれ $P < 0.05$, $P < 0.01$)、かつ ISI が 200ms で PPF が最大になることが示された。また、CSD 解析のコントロールの反応において、最も潜時の短い current sink は $600 \mu\text{m}$ (第 iv 層) に観察され、その後 $300 \mu\text{m}$ と $900 \mu\text{m}$ に伝わることを示された。第 iv 層での sink current は視床からの投射による活動を反映していると考えられた。また $600 \mu\text{m}$, $900 \mu\text{m}$ および $1800 \mu\text{m}$ の深さにおいて現われた潜時の早い小さな sink は、thalamic spike volley による入力を反映していると考えられた。 $1800 \mu\text{m}$ にも観察された潜時の短い sink は、視床から投射を受ける第 vb 層の活動を反映していると考えられた。また CSD 解析の結果は、PPF が浅い層で生じていることを示した。特に $600 \mu\text{m}$ の深さで著しい PPF が生じ、これが $300 \mu\text{m}$ と $900 \mu\text{m}$ に伝わることを示された。これは laminar recording において最も PPF が顕著であった $900\sim 1500 \mu\text{m}$ の深さとは明らかに異なっていた。

第 4 章は本論文の中核をなすもので、hyperexcitability 現象が deafferentation のメカニズムに由来するかどうかについて、上述した 3 つの観点から実験を行った。

Rose Bengal 法により局所的に梗塞部位を作成 (SI 領域の tail 部分) し、梗塞部位から 4mm ほど anterior にある FBS 領域での刺激反応特性の変化を経時的に調べた。評価は paired-pulse 法を用いて尺骨神経刺激による反応を皮質表面および皮質内で計測した。計測は超急性期である、1~6 時間後まで行い、一部の個体 ($n=2$) では 12 時間後まで計測を行った。

まず、Rose Bengal 法により、限定された領域に、ほぼ皮質に限定した深さで梗塞部位を作成することができた。これは Nissl 染色および Luxol Fast Blue 染色により確認した。

脳梗塞後における梗塞部位周辺の計測を行った結果、これまで 1 日かかるとされていた hyperexcitability 現象の出現が、超急性期において顕著に観察されることを始めて示すことができた。Hyperexcitability 現象は、誘発電位の amplitude の増大、てんかん様波形の出現、皮質内での自発活動の増加という形で観察された。これらの超急性期における hyperexcitability 現象は、paired-pulse 法においても観察されることが示された。最大の PPF を生じる刺激間隔はコントロールでは 200ms であったが、脳梗塞後では 150ms に変化していた。この変化は梗塞後 1 時間で現われ、2 時間後から統計的な有意さが認められた (one-way ANOVA and Student-Neumann-Keuls *post hoc* test; $P < 0.05$)。この結果は、上述した 1. の点を支持するものとなった。

次に、超急性期に生じた hyperexcitability 現象が受容野の拡大を伴うのかどうかを調べた結果、脳梗塞後超急性期において受容野の拡大が生じることが明らかになった。この結果は、2. を支持するものとなった。

さらに、受容野の拡大が浅い層で現われているのかどうかを調べるため、皮質内記録によるデータをもとに、CSD 解析を行った。Paired-pulse 法のコントロール刺激に対し、コントロール群では、600 μm と 1800 μm で早い sink が観察されたが、脳梗塞群はこれに加えて 300 μm における sink が観察された。また、2 発目の刺激に対する反応は、コントロール群が 600 μm で顕著な PPF を示したのに対し、脳梗塞群では 300 μm および 900 μm で顕著な反応をみせた。このことは、受容野の拡大が浅い層で生じていることを意味し、3. を支持するものとなった。

以上の結果は、hyperexcitability 現象が deafferentation であることを支持するための重要な 3 つの要件を全て満たすことを示した。

第 5 章では hyperexcitability 現象が、一般的に考えられている可塑性の主要なメカニズムである GABA_A 受容体の downregulation に帰せられるかどうかを調べるため、GABA_A の antagonist である bicuculline methiodide (BMI) 溶液 (100 μM) の bath application による確認を行った。その結果、脳梗塞後の hyperexcitability 現象に類似した反応 (amplitude の増大、てんかん様波形、自発活動の増加) が観察された。しかしながら、paired-pulse 法による評価では、最大の PPF を生じる刺激間隔はコントロールと同様で 200ms であり、脳梗塞後に観察された 150ms への移動は観察されなかった。また、脳梗塞群および BMI 群において CSD 解析による比較を行ったところ、コントロール刺激に対する反応は、BMI 投与群では 600 μm および 1800 μm で早い sink current が観察されたが、脳梗塞群はこれに加えて 300 μm における sink current が観察された。2 発目の刺激に対する反応は、BMI 群においては、900 μm のみの深さで顕著な反応をみせたのに対し、脳梗塞群では 300 μm と 900 μm で顕著な反応をみせた。以上から、BMI を用いた脳梗塞群との比較は、脳梗塞後の

GABA_A 受容体の downregulation が全ての層に渡って単純に生じているのではなく、神経回路網レベルにおけるメカニズムが存在することが示唆された。

第6章は総括であり、本研究において得られた結果をまとめた。

本論文をまとめると、deafferentation の観点から、大脳皮質梗塞部位周辺に生じる hyperexcitability 現象が adaptive plasticity であることを支持する結果を導くことができた。本研究における成果は、先端的な研究分野としての発展を示唆し、医学的、学術的にも非常に興味を持たれる意義深いものである。