

## 砂ネズミにおける局所脳血流量, ベンゾジアゼピン受容体と神経細胞の分布密度の一過性前脳虚血による変化

仲村 広毅

脳内に存在する多くの受容体が虚血性の侵襲に対してどのような反応を示すかはあまり知られていない。また局所脳血流量 (regional cerebral blood flow : rCBF), 抑制性の神経伝達物質受容体であるベンゾジアゼピン受容体 (benzodiazepine receptor : BZR), 神経細胞などの分布について比較検討した報告も少ない。さらに, 一過性前脳虚血後の rCBF, BZR の分布を経時的に比較した報告もほとんどない。

rCBF, BZR と神経細胞の分布密度の関係, また一過性前脳虚血後の変化を理解するために, まず正常成熟砂ネズミの rCBF, BZR と神経細胞の分布の相関関係について核医学的方法を用いて, さらには組織学的方法も用いて検討した。核医学的方法としては放射性リガンド N-isopropyl-p- [ $^{123}$  I] iodoamphetamine ( $^{123}$  I-IMP) と  $^{125}$  I-iomazenil ( $^{125}$  I-IMZ) を用いて autoradiography (ARG) 法により rCBF と BZR を半定量的に小脳に対する比率として求めた。組織学的方法としては Hematoxylin-Eosin 染色 (HE 染色) を行い, ARG と同じ領域の神経細胞数を計測した。虚血実験では一過性前脳虚血モデルを作製し, 遅発性神経細胞死を生じる海馬 CA1 領域と神経細胞に変化のみられない領域について比較検討を行った。

その結果, rCBF は視床と海馬歯状回以外の細胞密度の高い領域で高値を示したが, 一定の関係を認めなかった。BZR への集積率と神経細胞密度の間にも一定の関係は認めず, それぞれの領域の神経細胞ごとに, BZR の分布に差があることが示唆された。また海馬の CA1 領域に rCBF の一過性の上昇と錐体細胞の脱落がみられたが, BZR の分布に明らかな減少を認めなかった。このことは, 急性期における BZR への放射性リガンドの集積像は, 必ずしも神経細胞の生存を反映するものではないと思われた。 (平成 9 年 10 月 31 日受理)

### A Study of Regional Cerebral Blood Flow (rCBF), Distribution of Benzodiazepine Receptor and Neuronal Density and Alteration after Transient Forebrain Ischemia in the Mongolian Gerbil

Hiroki NAKAMURA

The response of many intracerebral receptors to ischemic insult is not known. In particular, there have been few reports comparing regional cerebral blood flow (rCBF) and the distribution of inhibitive benzodiazepine receptor (BZR) and neuronal











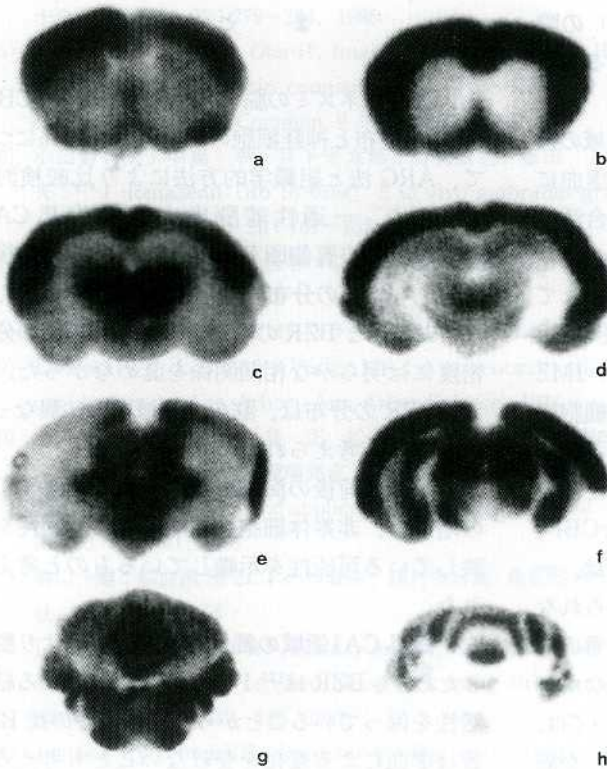


Fig. 3. Autoradiograms of gerbils 2 min. after injection of  $^{123}\text{I}$ -IMP (a, c, e, g) and 120 min. after injection of  $^{125}\text{I}$ -iomazenil (b, d, f, h). Autoradiograms are different between rCBF ( $^{123}\text{I}$ -IMP) and BZR ( $^{125}\text{I}$ -iomazenil).

らかな組織学的変化のみられない海馬 CA3領域および大脳皮質側頭葉について検討した。また比較の対象として虚血負荷の加わらない視床領域についても検討した。この間の虚血後の時間経過は虚血後1日から6日目までとしrCBFおよびBZRの分布の変化について検討した。

虚血後のrCBFは、神経細胞（錐体細胞）の脱落の生じた海馬 CA1領域においては、虚血後3日目を中心に増加した。この時期は、神経細胞以外の細胞（主に神経膠細胞）の増殖がみられる時期であり<sup>25)</sup>、神経細胞以外の細胞（主に神経膠細胞）の増加による代謝の亢進がrCBF増加の原因とも考えられた。一方、その他の部位では、虚血後一過性に軽度のrCBFの増加がみられたが、6日目にはコントロール値まで回復し

た。BZRの分布の変化は、虚血負荷後海馬 CA1, CA3, 大脳皮質側頭葉, 視床において、一過性に10~20%程度の低下がみられた。海馬 CA1領域においては、神経細胞（錐体細胞）の脱落が生じたにも関わらず、BZRの分布の低下はみられなかった。これに関して Onodera ら<sup>26)</sup>は、中枢性 BZR に対する特異的結合度の低い flunitrazepam を用いた ARG 法から、海馬 CA1領域の神経細胞（錐体細胞）には、BZR が優位に分布していないのではないかとしている。また Araki ら<sup>27)</sup>も、一過性前脳虚血（3~10分）後の長期的（虚血負荷8カ月後）な神経伝達物質受容体の変化について、海馬領域において GABA 受容体、ムスカリン性アセチルコリン受容体、NMDA (N-methyl-D-aspartate) 受容体などの結合活性が減少していることを示した。そして海馬領域の細胞障害が一時的なものではなく、長期的に徐々に

に進行していると報告している。一方、これに対して Whitehouse<sup>28)</sup>らは、ヒト autopsy にもとずいたラットのモデルの実験において、保存の条件が適切であれば、血流が途絶してから約48時間後においても flunitrazepam の BZR に対する結合活性が保たれると報告している。また Al-Tikriti ら<sup>1)</sup>は、脳梗塞後2から数時間経過した梗塞部位の神経細胞の BZR に対する  $^{125}\text{I}$ -IMZ の結合活性は残存していると報告している。塞栓性脳梗塞の早期再灌流後の臨床例で  $^{123}\text{I}$ -IMZ 検査結果において、CT や MRI 上梗塞領域であるにも関わらず、少なからず  $^{123}\text{I}$ -IMZ が集積し長期間にわたり徐々に低下するとの報告がある (Nakagawara ら<sup>29)</sup>)。

これらのことは、海馬 CA1領域においては、神



経細胞(錐体細胞)の細胞膜にもBZRが分布しており、虚血による神経細胞(錐体細胞)の障害後も、BZRは結合活性を保ち続けている可能性を示している。

今回の実験からも、BZRは海馬CA1領域の神経細胞(錐体細胞)にも分布しており、虚血に対して抵抗性を示し、細胞の脱落后も結合活性が保たれ、残存している可能性が考えられた。

以上、rCBFについてはこれまでに報告されている局所脳代謝<sup>30)</sup>に一致した分布様式を示し、脳代謝を反映していることが確認できた。IMZの集積すなわちBZRの分布は、rCBFや細胞密度とのあいだに一定の関係はみられず、各領域ごとに独立した分布を示すことがわかった。そして、正常状態における砂ネズミのrCBF、BZR、神経細胞密度の相互関係については、一定の傾向が認められる部位と関係の認められない部位が存在すること等、全体として三者の間に明らかな相関関係を認めることができなかった。一方、一過性前脳虚血後の変化については、海馬領域において、神経細胞(錐体細胞)が脱落し神経細胞以外の細胞(主に神経膠細胞)の増殖がみられるCA1領域でrCBFの有意な増加がみられ、rCBFはその部位の活動性を反映していることがわかった。CA1領域のBZRへの<sup>125</sup>I-IMZの集積は、虚血負荷後細胞の脱落が生じても、一時低下したが数日で回復した。このことからBZRへの集積は局所の神経細胞の生存を示す可能性はあるが、必ずしも生きた神経細胞に対して集積するものではないことも示唆された。

## ま と め

1. 正常砂ネズミの脳の各領域におけるrCBF、BZRの分布と神経細胞の分布密度の関係について、ARG法と組織学的方法により比較検討した。また、一過性前脳虚血後の海馬CA1、CA3、大脳皮質側頭葉、視床について虚血後のrCBF、BZRの分布の変化についても検討した。
2. rCBFとBZRの分布、また神経細胞の分布密度には明らかな相関関係を認めなかった。
3. BZRの分布は、脳の各領域ごとに異なっているものと考えられた。
4. 虚血負荷後の海馬CA1領域におけるrCBFの増加は、非錐体細胞の増加などの活動性を反映している可能性を示唆しているものと考えられた。
5. 海馬CA1領域の錐体細胞が虚血により脱落したあともBZRは<sup>125</sup>I-iomazenilに対する結合活性を保っていることから、この部分の総BZR数は虚血による変化を受けないことも考えられた。

稿を終えるにあたり、直接ご指導、ご校閲いただきました川崎医科大学救急医学教室、小濱啓次教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、種々の御助言を賜りました福田助教授をはじめ、救急医学教室の諸先生方に感謝いたします。

なお、本研究の一部は平成9年度川崎医科大学プロジェクト研究費(9-709)によったことを付記し、感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) Al-Tikriti MS, Dey HM, Zoghbi SS, Baldwin RM, Yzea-Ponce, Innis RB: Dualisotope autoradiographic measurement of regional blood flow and benzodiazepine receptor availability following middle cerebral artery occlusion. *Eur J Nucl Med* 21: 196-202, 1994
- 2) 鳥塚堯爾, 上村和夫, 融 道男, 篠原幸人, 西村恒彦, 米倉義晴, 中川原讓二, 松田博史, 坂井文彦, 松田一己, 福山秀直, 森本 清: 中枢性ベンゾジアゼピン受容体イメージング剤<sup>125</sup>I-イオマゼニルの第3相臨床試験(第4報). *核医学* 33: 329-344, 1996
- 3) 佐野圭司, 田村 晃, 早川 徹, 桐野高明: 脳卒中実験ハンドブック. 東京, アイピーシー社. 1992, pp43-114



- 4) 関 宏恭：N-isopropyl-p- [I-123] Iodoamphetamine による局所脳血流測定法に関する研究：金沢大学十全医学会雑誌 95：279-294, 1986
- 5) Matsuda H, Tsuji S, Oba H, Imai K, Shiba K, Terada H, Seki H, Sumiya H, Mori H, Hisada K：Direct autoradiographic comparison of <sup>99m</sup>Tc-HMPAO with <sup>125</sup>I-IMP in experimental brain ischemia. Nucl Med Commun 9：891-897, 1988
- 6) 小田野行男, 中島 孝, 宮下光太郎, 高橋直也, 藤田 基, 成富博章, 古沢哲哉, 林 茂信, 酒井邦夫：<sup>125</sup>I-iomazenil (Ro 16-0154) と in vivo autoradiography によるベンゾジアゼピン受容体イメージングの研究. 核医学 30：761-767, 1993
- 7) 井上 修：放射性物質の医学への応用. 西村恒彦, 井上 修編「医用放射線科講座・9/核医学」. 東京, 医歯薬出版. 1996, pp13-29
- 8) 森 啓次, 浜岡 勤：IP オートラジオグラフィ・システム(BAS). 蛋白質 核酸 酵素 39：1877-1887, 1994
- 9) Loskota WJ, Lomax P, Verity MA：A stereotaxic atlas of the Mongolian gerbil brain (Meriones unguiculatus). Ann Arbor, Ann Arbor Science, 1974
- 10) 田村 晃, 折井弘武, 長島 正, 松谷雅生：画像診断の基礎的研究 I. 脳梗塞モデルにおけるオートラジオグラフィ法による脳循環測定. 日本医学放射線学会雑誌 43：377-380, 1983
- 11) Kety SS：The theory and applications of the exchange of inert gas at the lungs and tissues Pharmacol Rev 3：1-41, 1951
- 12) 橋川一雄：脳血流 SPECT の検査法, 西村恒彦編「最新脳 SPECT/PET の臨床」. 東京, メディカルビュー社. 1995, pp38-55
- 13) Lear JL, Ackermann KF, Kamayama M, Kuhl DE：Evaluation of <sup>125</sup>I-isopropyl-iodoamphetamine as a tracer for local cerebral blood flow using direct autoradiographic comparison. J Cereb Blood Flow Metab 2：179-185, 1982
- 14) Johnsen EW, Innis RB：Receptor binding characterization of the benzodiazepine radioligand <sup>125</sup>I-Ro16-0154：potential probe for SPECT brain imaging. Life Sci 47：1535-1546, 1990
- 15) Savic I, Persson A, Roland P, Pauli S, Sedvall G, Widén L：In vivo demonstration of reduced benzodiazepine receptor binding in human epileptic foci. The Lancet 331：863-866, 1988
- 16) Richards JG, Mohler H：Benzodiazepine receptor. Neuropharmacology 23：233-242, 1984
- 17) Innis RB, Al-Tikriti MS, Zoghbi SS, Baldwin RM, Sybirska EH, Laruelle MA, Malison RT, Seibyl JP, Zimmermann RC, Johnson EW, Smith EO, Charney DS, Heninger GR, Woods SW, Hoffer RB：SPECT imaging of the benzodiazepine receptor：feasibility of in vivo potency measurements from stepwise displacement curves. J Nucl Med 32：1754-1761, 1991
- 18) 桜田 修：オートラジオグラムによる脳局所血流-代謝測定法. Medicina 18：1702-1704, 1981
- 19) 田村 晃, 折井弘武：Autoradiography. 日本臨床 43：324-328, 1985
- 20) Hoell K, Deisenhammer E, Dauth J, Loeffler W, Carmann H, Schubiger A：SPECT mapping of human brain benzodiazepine receptor. J Nucl Med 29：759, 1988
- 21) Beer HF, Blauenstein P, Hasler P, Schubiger PA, Deisenhammer E, Delaloye B, Fill H：First studies in human with an I-123labelled benzodiazepine, A receptor binding tracer. Eur J Nucl Med 14：251, 1988
- 22) Matsuda H, Tsuji I, Shiba K, Hisada K, Mori H：Dual-tracer autoradiography using <sup>125</sup>I-iomazenil and <sup>99m</sup>Tc-HMPAO in experimental brain ischemia. Nucl Med Commun 16：581-590, 1995
- 23) Jibiki I, Kurokawa K, Matsuda H, Fukushima T, Tsuji S, Yamaguchi N, Hisada K：Comparison of benzodiazepine receptor and regional cerebral blood flow imaging of epileptiform foci in hippocampal kindled rabbits：a preliminary report. Pharmacol Biochem Behav 48：553-556, 1994
- 24) 松田博史, 辻 志郎, 久慈一英, 久田欣一：実験的慢性脳梗塞における中枢性ベンゾジアゼピン受容体と脳血流. 核医学 30：643-650, 1993

- 25) 佐藤真也：一過性前脳虚血後の海馬における組織学的変化—特にアストロサイトの役割について。川崎医学会誌 21 : 225—236, 1995
- 26) Onodera H, Sato G, Kogure K : GABA and benzodiazepine receptor in the gerbil brain after transient ischemia : Demonstration by quantitative receptor autoradiography. *J Cereb Blood Flow Metab* 7 : 82—88, 1987
- 27) Araki T, Kato H, Kogure K, Kanai Y : Long-term changes in gerbil brain neurotransmitter receptors following transient cerebral ischemia. *J Pharmacol* 107 : 437—442, 1992
- 28) Whitehouse PJ, Lynch D, Kuhar MJ : Effects of post-mortem delay and temperature on neurotransmitter receptor binding in rat model of the human autopsy process. *J Neurochemistry* 43 : 553—559, 1984
- 29) Nakagawara J, Sperling B, Lassen NA : Incomplete brain infarction of reperfused cortex may be quantitated with iomazenil. *Stroke* 28 : 124—132, 1997
- 30) Sokoloff L : The [ $^{14}\text{C}$ ] -deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization : Theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J Neurochem* 28 : 897—916, 1977