

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

density in the whole brain. Furthermore, there have only a few chronological experiments comparing rCBF following transient forebrain ischemia (five minutes) with the distribution of BZR.

In the present experiment, we determined rCBF and the distributions of BZR and neurons employing the procedures of nuclear medicine and histology in normal mongolian gerbils. The binding of radioligands, N-isopropyl-p- [123 I] iodoamphetamine (123 I-IMP) and 125 I-iomazenil (125 I-IMZ), was determined autoradiographically to the brain to estimate the rCBF and BZR in each region. The density of neurons was determined by counting the number of neurons stained by hematoxylin-eosin (HE stain) in the corresponding regions to that examined by autoradiography (ARG). Then a model of transient forebrain ischemia was prepared to compare the CA 1 region of the hippocampus, with a region which was demonstrated no change in neurons. In the CA 1 region of the hippocampus, delayed neuronal death was occurred after five minutes of transient forebrain ischemia.

It was observed that rCBF was high in regions where the density of neurons tended to be high except thalamus and dentate gyrus of the hippocampus. There was no confirmed relationship between the rates of accumulation of the BZR and the densities of neurons. It was suggested that the BZR distribution might be different in each neuron. After the ischemic treatment, the rCBF level was transiently elevated in the CA 1 region of the hippocampus. No obvious reduction of BZR was observed in the CA 1 region in spite of some neurons died. It was proved that the distribution of BZR in the acute phase after the ischemic insult do not always reflect the survival rate of neurons. (Accepted on October 31, 1997) *Kawasaki Igakkaishi* 23(3): 175-184, 1997

Key Words ① Mongolian gerbil ② Ischemia
③ regional cerebral blood flow (rCBF)
④ Benzodiazepine receptor (BZR) ⑤ Neuronal density

はじめに

脳血流、脳代謝、神経伝達物質受容体の分布などを知るための優れた放射性リガンドが近年開発され、各方面において利用されている。

なかでも、中枢性 benzodiazepine 受容体 (BZR) のイメージングに用いる放射性リガンド (Iomazenil: IMZ) の集積は局所脳血流量、さらには神経細胞の分布も反映するとの報告がある^{1), 2)}ものの詳細な相関関係についての報告はない。

本研究では、局所脳血流量 (regional cere-

bral blood flow: rCBF) 測定には N-isopropyl-p- [123 I] iodoamphetamine (123 I-IMP) を用い、BZR の測定には 125 I-iomazenil (125 I-IMZ) を用いてイメージングを行い、異なった放射線リガンドを用いた autoradiography (ARG) 法によって検討した。さらに、一過性前脳虚血 (5分間) 後の海馬 CA1 領域の錐体細胞の障害と rCBF, BZR の分布の関係について検討した。また、脳内各領域における神経細胞の分布の変化について神経細胞計測による検討も行った。実験動物としては脳底部動脈輪の形成不全 (後交通動脈の先天的欠落) を有し、anterior circulation と posterior circulation との連絡が

ほとんどなく³⁾, 前脳虚血実験に適している砂ネズミを用いた。

対象および方法

1. 対象

60~80gの成熟(12~14週齢)雄性砂ネズミ(mongolian gerbil, 126匹)を用いた。

2. 方法

1) ARGとHE染色

エーテル麻酔下に砂ネズミの大腿静脈を露出し, 放射性リガンド(生理食塩水加)または生理食塩水の静脈内投与を行った。

①局所脳血流量(rCBF)とBZR分布の測定
rCBFの測定は, N-isopropyl-p-[¹²³I]iodoamphetamine(¹²³I-IMP: 日本メジフィジックス社) 61KBq/匹(0.16ml)+生理食塩水(0.14ml)を約20秒間かけて砂ネズミの静脈内に投与した。6匹の動物について行い, 投与開始から2分後に断頭した^{4), 5)}。

BZR分布の測定は, ¹²⁵I-iomazenil (¹²⁵I-IMZ: 日本メジフィジックス社) 1.85MBq/匹(0.05ml)+生理食塩水(0.25ml)を約20秒間かけて砂ネズミの静脈内に投与した。6匹の動物について行い, 投与開始から120分後に断頭した⁶⁾。

ともに断頭後速やかに全脳を摘出し, ドライアイス・アセトン液(-78°C)で凍結した。凍結脳はクリオスタット(HM505E: MICROM社)を用いて20μm厚の凍結冠状切片を作製し, スライドガラス上に貼付し, 十分に乾燥させた。その後, 輝尽性蛍光体を利用した^{7), 8)} Imaging plate(IP: Fuji film社)に約24時間密着させた。AutoradiogramはイメージアナライザーBas 2000(Fuji film社)を用いてIPから読みとり, 画像解析を行った。

まず, 対照群において, 関心領域(ROI: range of interest)はLoskotaらの図譜⁹⁾を参考に尾状核, 被殻を含む冠状切片上で4カ所(大脳皮質前頭葉, 尾状核・被殻背外側, 尾状核・被殻腹側内側, 側坐核), 海馬を含む冠状切片

上で7カ所(視床, 海馬CA1・CA3・歯状回, 大脳皮質頭頂葉・側頭葉, 視床下部)更には小脳の冠状切片上で小脳皮質を1カ所設定し(各0.25~0.36mm²の領域)測定を行った。

虚血負荷群では, 神経細胞の脱落がみられる海馬CA1領域と虚血性変化のみられない海馬CA3領域, 視床, 側頭葉について比較した。

評価は尾状核・被殻および海馬を含む冠状切片上に設定した単位面積当たりのROIの(PSL) photo stimulated luminescence 値(PSL/mm²)を小脳の冠状切片上の単位面積当たりのROIのPSL値で除することにより比率を求めて半定量的に比較検討した。

② HE染色による細胞密度の測定

エーテル麻酔下で, 生理食塩水0.3mlを約20秒間かけて静脈内投与した。投与開始から2分後に200mlの生理食塩水および200mlの4% formaldehyde(FA)液を経心的に注入し, 右心耳を切開し脱血を行いながら灌流固定(約10分)を行った。偽手術として6匹の砂ネズミについて行い, 灌流固定後, 脳を摘出し4% formaldehyde(FA)でさらに1時間浸透固定し, alcohol, xyleneで脱水後パラフィン包埋し, ミクロトームで5μm厚の切片を作製しHE染色を行った。検討領域はBZRの分布を計測したのと同じ領域を選んだ。各領域で1視野中(25×25μm²)の神経細胞数を計測, 単位面積当たりの細胞密度を算出した。

2) 一過性前脳虚血モデルの作製

砂ネズミにエーテルで麻酔を導入, pentobarbital(Nenbutal®, 50mg/kg, i.p.)で維持した。頸部前面に正中切開を加え両側総頸動脈を露出し, microvascular clip(TKS-1®, 協和時計工業社)を用いて血流を5分間遮断した。その後クリップを解放し, 血流の再開を確認した後に創を閉鎖した。この間の手術開始から術後1時間まで, animal blanket controller®(日本光電社)を用いて, 直腸温を37±0.5°Cに維持した。

虚血負荷後の動物を手術0日, 術後1日, 2日, 3日, 4日, 5日, 6日の各6匹ずつの群

にわけ、ARGによるrCBF、BZRの分布の測定と細胞分布密度の計測を行った。また、無処理の動物6匹を対照群とした。

3. データの解析

rCBFとBZRへの集積率はPaired t testにより $P < 0.05$ を有意とする計測値の平均値±標準偏差により求めた。

なお、本研究は川崎医科大学動物実験委員会の承認を受け(No.97-025, 1997年)、川崎医科大学の動物実験指針に基づいて実施された。

4. 結果

1) 対照群

① rCBF (^{123}I -IMPの集積比)について

^{123}I -IMPの集積比は、大脳皮質では側頭葉

で155.2%、頭頂葉で138.2%、前頭葉で114.2%の順に高い集積比を示し、視床も153.1%と高値を示した。その他視床下部が97.7%、尾状核・被殻腹側内側は94.7%、尾状核・被殻背外側は93.2%、側坐核は90.2%であった。海馬は全体で80.1%を示し、CA1領域で74.8%、CA3領域で92.2%、歯状回では87.7%と低値を示した(**Table 1**)。

② BZRの分布 (^{125}I -IMZの集積比)

BZRへの集積比は大脳皮質の前頭葉で290.0%、側頭葉で262.1%、頭頂葉では196.8%の順に高値を示した。次いで側坐核183.8%、視床168.8%であった。海馬においては、全体で119.2%で、CA1領域では124.9%、CA3領域では

101.4%、歯状回は124.0%の集積比を示した。一方、視床下部は102.8%、尾状核・被殻背外側97.3%、尾状核・被殻腹側内側88.1%と比較的低値を示した(**Table 1**)。

③ 神経細胞の分布密度

神経細胞の分布密度は、海馬歯状回が $375.8/25 \times 25 \mu\text{m}^2$ と最高値を示し、次いで大脳皮質側頭葉の $209.3/25 \times 25 \mu\text{m}^2$ 、視床下部の $199.4/25 \times 25 \mu\text{m}^2$ であった。更に大脳皮質頭頂葉は $191.6/25 \times 25 \mu\text{m}^2$ 、前頭葉は $191.6/25 \times 25 \mu\text{m}^2$ の順で高値を示した。尾状核・被殻では腹側内側が $161.6/25 \times 25 \mu\text{m}^2$ 、背外側が $135.7/25 \times 25 \mu\text{m}^2$ を示し、海馬CA1領域では $141.7/25 \times 25 \mu\text{m}^2$ 、CA3領域では $131.8/25 \times 25 \mu\text{m}^2$ であった。最も密度が低かった領域は、視床の $104.7/25 \times 25 \mu\text{m}^2$ であった(**Table 2**)。

2) 虚血負荷群

① rCBFの変化

^{123}I -IMPの集積比は、虚血

Table 1. ^{123}I -IMP and ^{125}I -IMZ tracer accumulation in the cerebral region as a percentage to that of the cerebellum region in control mongolian gerbil brain.

Structure	^{123}I -IMP(%)	^{125}I -IMZ(%)
Caudate Putamen(dorso lateral)	93.2±25.2	97.3±28.1
Caudate Putamen(ventro medial)	94.7±25.6	88.1±24.5
Accumbens nucleus	90.2±16.8	183.8±50.7
Cerebral cortex (frontal)	114.2±51.4	290.0±37.9
Cerebral cortex (parietal)	138.2±18.1	196.8±37.9
Cerebral cortex(temporal)	155.2±41.4	262.1±54.1
Thalamus	153.1±22.2	168.8±27.9
Hippocampus	80.1±21.4	119.2±17.7
Hippocampus(CA 1)	74.8±17.7	124.9±19.1
Hippocampus(CA 3)	92.2±25.4	101.4±19.1
Hippocampus(DG)	87.7±13.5	124.0±22.5
Hypothalamus	97.7±20.9	102.8±20.6
Cerebellum	100	100

^{123}I -IMP; N-isopropyl-p- [^{123}I] iodoamphetamine,

^{125}I -IMZ; ^{125}I -iomazenil, DG; dentate gyrus

Table 2. Neuronal density is neuron counts per a field of view ($25 \times 25 \mu\text{m}$).

Structure	Neuronal density(/a field of view)	
	Control	6 days after ischemic insult
Caudate Putamen(dorso lateral)	135.7±21.5	130.7±19.5
Caudate Putamen(ventro medial)	161.6±22.1	156.5±23.1
Accumbens nucleus	147.0±45.2	147.8±38.2
Cerebral cortex (frontal)	157.3±65.2	165.3±55.2
Cerebral cortex (parietal)	191.6±20.9	181.6±23.1
Cerebral cortex(temporal)	209.3±35.5	201.9±36.5
Thalamus	104.7±14.8	110.9±20.8
Hippocampus(CA 1)	141.7±22.1	1.9± 2.4
Hippocampus(CA 3)	131.8±29.2	120.9±19.8
Hippocampus(DG)	375.8±79.3	351.2±65.4
Hypothalamus	199.4±42.1	200.1±39.2

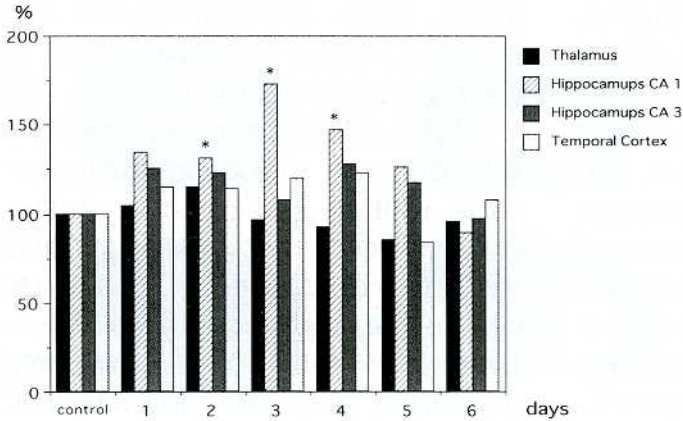


Fig. 1. The changes of regional cerebral blood flow in each area from 0 to 6 days following ischemic insult. Values were represented by the percentage of that of nonischemic animal ratios of IMP accumulation on Table 1. *represents significant difference from control ($p < 0.05$).

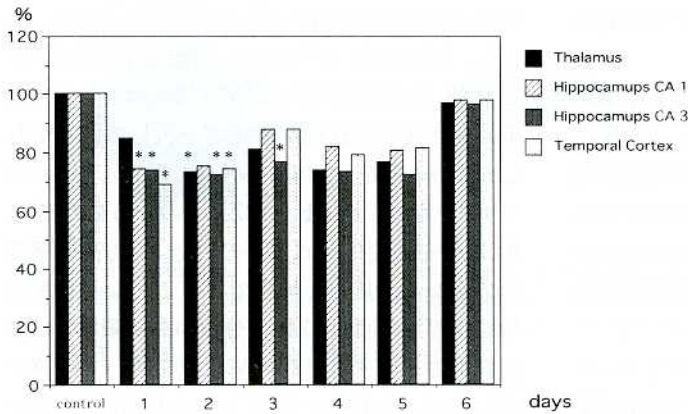


Fig. 2. The changes of distribution of benzodiazepine receptors in each area from 0 to 6 days following ischemic insult. Values were represented by the percentage of that of nonischemic animal ratios of IMZ accumulation on Table 1. *represent significantly different from control ($p < 0.05$).

後神経細胞の脱落が認められなかった大脳皮質側頭葉では虚血後4日目を最高に対照値に対して122.6%と上昇し、6日目には107.2%とやや低下した。視床では2日目に軽度の上昇した後、徐々に低下し6日目にコントロール値に対して95.3%となった。海馬CA3では、4日目に114.1%に上昇したが、6日目には97.1%に減少した。神経細胞の脱落が認められた海馬CA1では虚血後1日目から増加し、3日目には最高173%になり有意な血流の増加が認められた (Fig. 1)。

② BZR の分布

BZR への IMZ の集積比は、虚血後神経細胞の脱落を認めなかった大脳皮質側頭葉では虚血後1日、2日目に IMZ の集積率が対照値に対して68.7%、74.2%と有意な低下を示し、その後徐々に対照値と同程度に回復した。視床では BZR への IMZ 集積比が虚血後2日目に対照値に対して84.6%に低下したが、6日目には対照値まで回復した。海馬CA3領域でも BZR への IMZ の集積比が虚血後1日目、2日目にそれぞれ73.7%、72.1%と底値を示したが、6日目には対照値まで回復した。海馬CA1領域では、BZR への IMZ の集積比が虚血後1日目に74.2%まで低下したが、6日目には対照値と同程度まで回復した (Fig. 2)。

③ 神経細胞の分布密度

海馬CA1領域では虚血後3～4日目にかけ神経細胞(錐体細胞)が急速に脱落し、6日目には、BZR への IMZ の集積比が対照値と同程度まで回復したにも拘らず、ほとんどの神経細胞は脱落していた (Table 2)。

5. 考 察

1) 対照群について

局所脳血流量 (rCBF) と脳内神経伝達物質受容体との関係について、これらに加えて神経細胞密度について同時に検討した報告はみられない。このことから今回、rCBF と BZR の分布を異なった放射性リガンドを用い、ARG 法により半定量的に測定し検討するとともに、ARG で測定した ROI と同じ領域の神経細胞密度を計測し、比較検討した。

rCBF を測定する方法としては、水素クリアラ

ンス法, レーザードップラー法, microsphere法, ARG法, 電磁血流計など様々な方法がある。今回行ったARG法は, 脳全体の血流パターンを解剖学的構築と対比して表示することができる¹⁰⁾。このことは, 脳血流量に限らず, 脳代謝, 脳内神経伝達物質・受容体の分布の測定にも適している。これらのことから, ARG法を用いてrCBFおよびBZRの分布の測定を行った。

また, rCBFの測定に用いる放射性リガンドは, Ketyら¹¹⁾の報告以降, ¹⁴C-iodoantipyrineを用いた報告が多かったが, 近年は¹²⁵I-IMPや, ^{99m}Tc-HMPAOを用いることが増えてきた。¹²³I-IMPは静脈内投与後に血液脳関門を通過し, 初回循環で脳組織へ摂取される率が100%に近いこと, また脳血流と集積率間の直線性がよく保たれるため, 軽度の血流変化の描出能に優れている^{12), 13)}。

一方, BZRの分布の測定には, 同受容体のantagonistである¹²⁵I-IMZを用いた。BZRには神経細胞に局在する中枢性BZRと神経膠細胞や心臓, 腎臓などに局在する末梢性BZRとが知られている^{14), 15), 16)}。中枢性BZRのantagonistであるIMZは, 親和性, 特異的結合度が最も高くBZR分布の測定に優れている^{14), 17)}。

¹²³I-IMPと¹²⁵I-IMZの2つの核種を用いてARG法による実験の結果, 砂ネズミのrCBFは, 大脳皮質(側頭葉, 頭頂葉, 前頭葉の順), 視床で高値を示した。一方, 尾状核・被殻, 視床下部のrCBFは低く, 特に海馬(CA1領域, 歯状回)や側坐核は低値を示した。これらのことから, 砂ネズミのrCBFが正常時でも部位により異なると考えられる。一般に, rCBFは局所における脳代謝と相関するといわれている¹⁸⁾。大脳皮質でrCBFが高値を示したことはこの部位の代謝が正常時においても亢進していることを示している。このことはラットにおける結果とも一致している¹⁹⁾。脳全体としてrCBFが不均一であることは, 解剖学的な要素や局所における組織代謝の違いなどが複雑に関係していると思われる。

BZRの分布は, 大脳皮質(前頭葉, 側頭葉,

頭頂葉), 側坐核, 視床で高値を示したが, 尾状核・被殻および視床下部では低値であった。部位によってはその差が最大約3倍もあり, 全体としてBZRの分布は各領域でかなりの差がみられた。このことは, ARGのイメージでも確認できたが, rCBFのイメージとは異なっていた(Fig. 3)。正常群での¹²⁵I-IMZの集積は, 早期像(静注後約30分まで)は血流を反映し, 後期像(静注後120分以降)はBZRの分布を反映するといわれる^{4), 20), 21)}。今回, 大脳皮質(前頭葉, 頭頂葉, 側頭葉), 側坐核, 視床, 海馬CA1, 海馬歯状回, 海馬全体でBZRは高い分布を示したが, このうち大脳皮質, 視床ではrCBFは高値を示し, 側坐核, 海馬ではrCBFは低かった。このことは, rCBFとBZRには相関関係がなく, BZRは脳血流に依存していないと考えられた。しかし, Matsudaら²²⁾はラット慢性脳梗塞モデルでBZR分布の変化がrCBFの変化よりもより正確に虚血後の神経細胞の障害を表しているかもしれないことを, Jibikiら²³⁾はてんかんモデルのウサギを用いてrCBFとBZRとの分布を比較し, BZR分布の変化がrCBFの変化よりも高い感度でてんかんの焦点を検出できることなどを報告している。今回, BZRの分布の高い領域では神経細胞の分布密度は海馬歯状回を除いて高値を示したが, 視床ではBZRの分布が高いにもかかわらず神経細胞密度は低値を示した(Table 1, 2)。BZRは神経細胞膜上のみ存在し, そのantagonistであるIMZは, BZRに対して非常に高い親和性を有する。IMZの集積はBZRの分布を反映していると考えられている^{14), 17), 24)}。今回の実験で, BZRと神経細胞密度との間に領域ごとで差がみられた。このことは, 各領域において各々の神経細胞に分布するBZRの数が異なるということが推測される。すなわち, 各領域の神経細胞の持つ機能や特性によってもその受容体分布は異なっているものと考えられる。

2) 虚血群について

虚血後の変化については, 5分間の一過性前脳虚血の後に神経細胞(錐体細胞)の脱落がみられる海馬CA1領域と, 虚血負荷によっても明

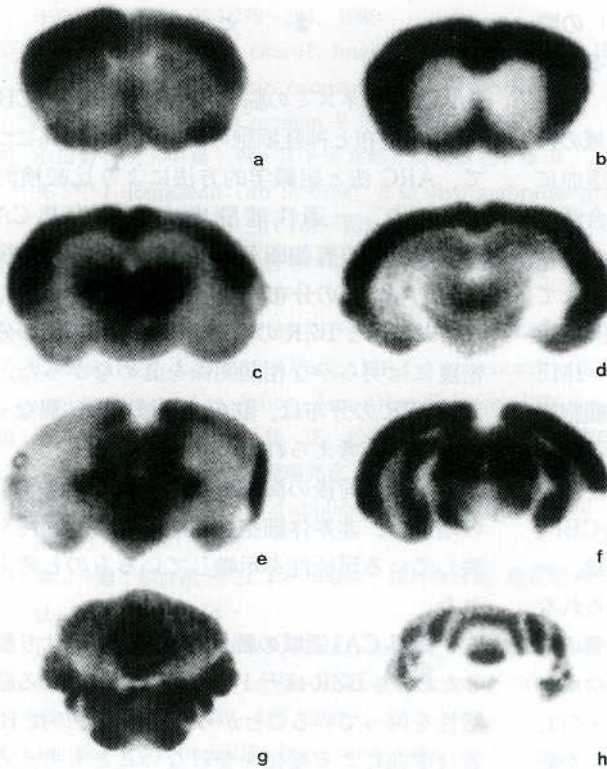


Fig. 3. Autoradiograms of gerbils 2 min. after injection of ^{123}I -IMP (a, c, e, g) and 120 min. after injection of ^{125}I -iomazenil (b, d, f, h). Autoradiograms are different between rCBF (^{123}I -IMP) and BZR (^{125}I -iomazenil).

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²⁵⁾、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²⁶⁾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²⁷⁾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 Whitehouse²⁸⁾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¹⁾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}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}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}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²⁹⁾)。

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³⁰⁾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¹²⁵I-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¹²⁵I-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) 鳥塚莞爾, 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¹²⁵I-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 ^{99m}Tc-HMPAO with ¹²⁵I-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：¹²⁵I-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 ¹²⁵I-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, InnisRB：Receptor binding characterization of the benzodiazepine radioligand ¹²⁵I-Ro16-0154：potential probe for SPECT brain imaging. Life Sci 47：1535-1546, 1990
- 15) Savic I, Persson A, Roland P, Pauli S, Sedrall G, Widén L：In vivo demonstration of reduced benzodiazepine receptor binding in human epileptic foci. The Lancetii：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 ¹²⁵I-iomazenil and ^{99m}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. Pharmac 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}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