

SHR/Izmを用いた脳梗塞モデルの開発

国立病院機構肥前精神医療センター 臨床研究部 八尾博史

高血圧は脳卒中の最大の危険因子であり、共存症としての高血圧を有する SHR は脳梗塞モデルとして有用である。ヒトの脳梗塞モデルとして多くは、げっ歯類における中大脳動脈閉塞による局所脳虚血モデルが用いられる。SHR もしくは SHRSP が脳梗塞モデルとして確立されたのは 1980 年代であるが、多岐にわたる SHR もしくは SHRSP の亜系が用いられている。本稿では、脳梗塞モデルとしての SHR に焦点を絞り、多彩な亜系から様々な SHR の脳梗塞モデルが開発された黎明期の状況について解説し、著者らが用いているレーザーによる中大脳動脈閉塞・再灌流の方法についても解説してみたい。

多岐にわたる SHR 亜系を用いた脳梗塞モデルの確立

中大脳動脈閉塞モデルは閉塞部位が穿通枝の分岐点の近位部か遠位部かで大きく2つに分かれる。1981年に NIH からミシガン大学に供与された SHRSP を用いて、Peter Coyle は遠位部中大脳動脈の閉塞により脳梗塞を作製した¹⁾。この方法は、アイオワ大学の Heistad のグループとの共同研究や、その後同グループによる長期降圧療法の脳梗塞サイズにおよぼす影響の検討に用いられた²⁾。さらにミシガン大学の SHRSP は、1991年にグラスゴー大学へ供与され、脳梗塞サイズを規定する量的形質遺伝子座の解析もこのモデルを用いて行われた³⁾。

ラットで初めて局所脳虚血モデルを確立した Tamura ら (1981) の近位部中大脳動脈閉塞の方法は、フランスにおいて Durverger と MacKenzie (1988) により SHR と SHRSP に応用された⁴⁾。この SHR は、京都大学から NIH を経て Charles River 社に委託されたものであるが、SHRSP に関しては恐らく京都大学から欧州へ供与されたものに由来するようであるが詳細は不明である。一方、米国では Brint ら (1988) により Charles River 社と Taconic Farms 社の SHR を用いて、遠位部中大脳動脈閉塞に同側総頸動脈閉塞を組み合わせた局所脳虚血モデルが確立された⁵⁾。この時点で SHR の脳梗塞モデルはかなり完成形に近づいたといえる。

マイアミ大学の Watson は、特定波長の光 (レーザー) と光感受性色素により生体内で血小板血栓を作製する画期的な方法を考案し、*photothrombosis* と命名した。この *photothrombosis* の方法による SHR の中大脳動脈閉塞の最初の実験は 1993 年に行われ、著者もこの実験に参加した (論文は 1996 年)⁶⁾。また、最近では頸動脈から糸つき栓子を挿入し中大脳動脈起始部を閉塞する塞栓子モデルや自家血凝結塊による塞栓モデルも SHR を用いて作製されている。

SHR/Izm を用いた局所脳虚血モデル

Photothrombosis による閉塞中大脳動脈を再灌流する方法は、やはり Watson により開発され、パルスレーザーである YAG レーザーを用いることで 1999 年頃より可能となった。SHR においてこの2つのレーザーを用いる方法は、著者らにより SHR/Kyushu で、次いで SHR/Izm を用いて確立された^{7, 8)}。図1に実際の実験系を示しているが、遠位部中大脳動脈を露出し、クリプトンレーザー (568 nm, 20 mW) を中大脳動脈に4分間照射し、照

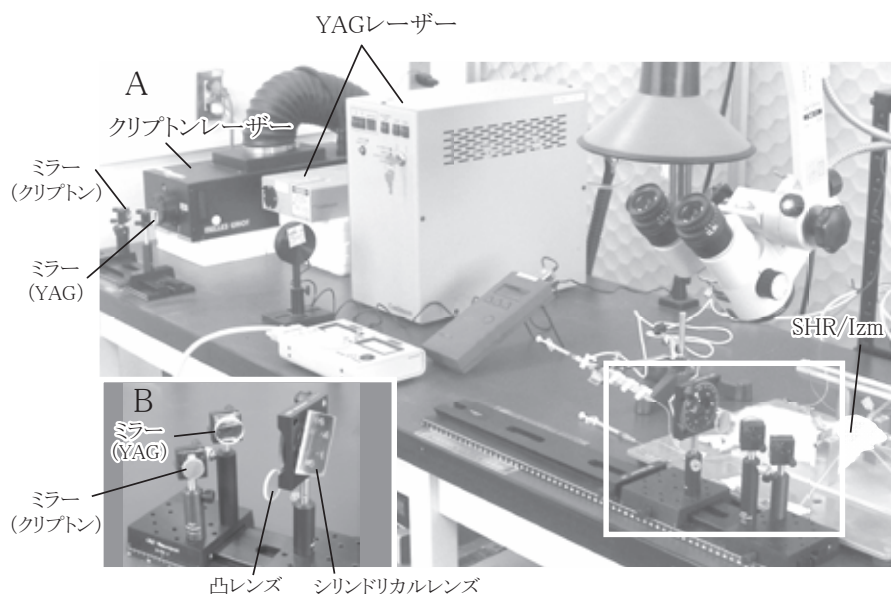


図1 SHR/Izmを用いたレーザーによる中大脳動脈閉塞・再灌流モデル
Bは白栓部を反対側からみたもの。

射開始から 90 秒で光感受性色素ローズベンガル (20 mg/kg) を静注すると血管は 3 分以内に閉塞する (成功率 99%)。閉塞後任意の時間に YAG レーザー (355 nm、16 mW) を閉塞部に照射すると通常 3 分以内に再灌流が起こる (成功率 93%)。1 時間閉塞後に再灌流を行うと、脳梗塞容積は永久閉塞の場合の約 50% で、早期の血行再開による脳梗塞に対する治療効果が明らかであるが、2 時間閉塞後の再灌流では脳梗塞は縮小しない (図 2 A)。この早期の再灌流という治療的介入により救出される部分が虚血性ペナンプラと称される治療可能性の高い虚血辺縁部である (図 2 B 黄色の部分)。このレーザーを用いる方法は、単一波長というレーザーの特性から光化学反応の効率がよく、直進性という性質により血管を露出すればレーザーは到達できるので、硬膜は開放する必要がなく、したがって侵襲性は低い。また、脳梗塞サイズの再現性は良好である。

なお、具体的な実験手技やレーザーを用いる上での注意点は他の著作⁹⁾で詳述しているので、参照していただけると幸いです。

おわりに

SHR を脳梗塞モデルとして使用する利点としては、(1) 共存症としての高血圧を有する。(2) 5 ヶ月齢以降はほぼ一生涯、体重と血圧の増減が少なく安定している。(3) 再現性が良く、適当な大きさの脳梗塞が作製できる。(4) 正常血圧ラットと同様の脳梗塞となる脳血流閾値と時間閾値であること。(5) コンジェニック手技により多遺伝子疾患としての脳卒中研究に応用できる¹⁰⁾などがあるが、欠点としては、(1) 動物購入費用ないし分与を受ける経費が高価である。(2) 高齢となると死亡率が高い。(3) 治療薬剤に対して若干の治療抵抗性があると言われている。(4) 亜系や供給元により遺伝的素因が異なることがあることが指摘できる。

高血圧のみならず、脳卒中の研究においてもきわめて有用な SHR が今後より多く脳梗塞モデルとして利用されることを期待したい。

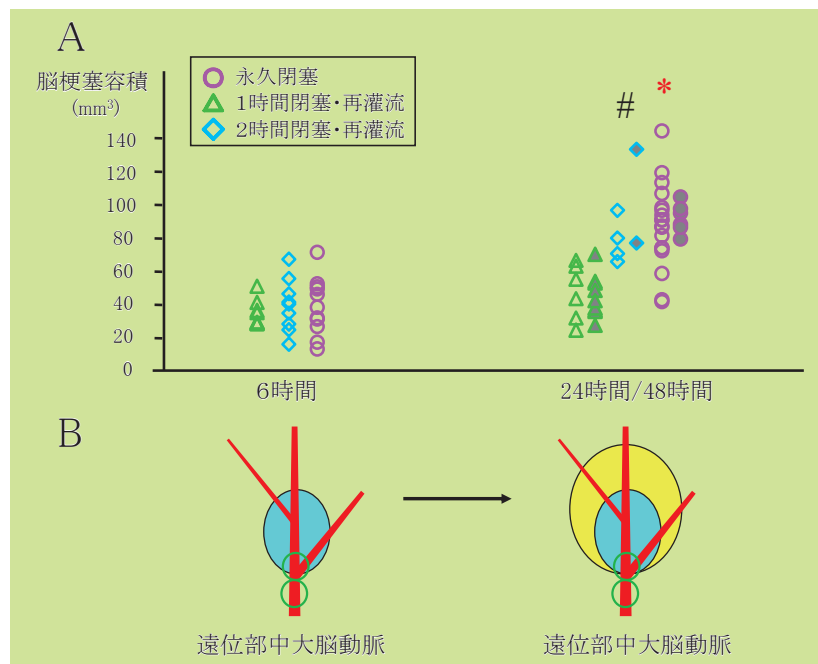


図2 SHR/lzmを用いた中大脳動脈閉塞・再灌流：脳虚血病態の経時的進行 24/48時間の中抜きマークは24時間後の、塗りつぶしマークは48時間後の脳梗塞容積
$p=0.002$ vs. 1時間閉塞・再灌流群 (24/48時間) および2時間閉塞・再灌流群 (6時間)
* $p<0.001$ vs. 1時間閉塞・再灌流群 (24/48時間) および永久閉塞群 (6時間)、ANOVA & Scheffe test.

参考文献

- 1) Coyle P, et al. Stroke 1983;14:605.
- 2) Fujii K, et al. Hypertension 1992;19:713.
- 3) Jeffs B, et al. Nat Genet 1997;16:364.
- 4) Duverger D, et al. J Cereb Blood Flow Metab 1988;8:449.
- 5) Brint S, et al. J Cereb Blood Flow Metab 1988;8:474.
- 6) Prado R, et al. J Cereb Blood Flow Metab. 1996;16:612.
- 7) Yao H, et al. Stroke 2003;34:2716.
- 8) Yao H, et al. Cell Mol Neurobiol 2011;31:57.
- 9) 八尾博史. 血栓症・動脈硬化モデル動物作製法. 金芳堂 2007, p86.
- 10) Yao H, et al. Physiol Genomics 2007;30:69.