

日本財団補助金による

1999年度日中医学協力事業報告書

—日本人研究者派遣—

1999年10月13日

財団法人日中医学協会

理事長中島章殿

講演・手術指導等の写真を添付して下さい。

1. 訪中者氏名 竹内義喜 ④
所属機関名 香川医科大学才-解剖学 職名 教授
所在地 〒761-0792香川県木田郡三木町池戸1250-1 電話 087-891-2086
受入機関名 中国医科大学脳研究所
所在地 中国沈阳市和平区北2馬路92
受入責任者名・役職 呂永利・教授

2. 中国滞在日程 (訪問都市・機関名等主な日程を記入して下さい)

平成11年9月19日 中国沈阳市 中国医科大学脳研究所
S
平成11年9月26日 同上

3. 交流報告

(別添書式を参考に、講演・指導内容、訪問地の状況・課題、今後の交流計画等を4000字以上で報告して下さい。

ワープロ使用)

交流テーマ アルコールおよびメタアンフェタミン依存症の脳の分子病態学的研究：
脳血管透過性による解析

訪中研究者氏名 竹内義喜

所属 香川医科大学第一解剖学

役職 教授

報告

<講演・指導内容>

1999年9月23日(13:30-15:30)、中国医科大学脳研究所セミナー室において、“扁桃体の自律機能に関する形態学的研究”と題し講演を行った(添付資料1、2)。一般的に自律機能の上位中枢としては視床下部が最も知られているが、近年、扁桃体の自立機能のうち主として心血管系・呼吸・分泌・腺などの機能に対する神経学的アプローチが大いになされてきた。一方、自律機能異常は薬物依存症でしばしば認められ、とくにアルコール中毒では末梢血管の拡張、脳血流量の増加、腎におけるADH分泌抑制、腎尿細管からの水再吸収低下、さらにアルコールの血中濃度12.0-13.2 g/lでは心停止をきたし、呼吸に関しては頸動脈洞反射と考えられる呼吸抑制(呼吸麻痺)が報告されている。メタアンフェタミン(MAP:覚醒剤)中毒においては交感神経興奮作用として、散瞳・頻脈・不整脈・血圧上昇・発汗あるいは悪寒・悪心・嘔吐・錯乱・失見当・幻覚をきたし循環器系の虚脱・全身痙攣・昏睡を引き起こし、ついには死亡に至る場合もある。以上の事からを背景にし、講演では自律神経機能のうち心血管系に影響を与える迷走神経の起始である迷走神経背側核、延髄カテコールアミンニューロングループ、結合腕傍核、呼吸に対しては孤束核、分泌腺に対しては上唾液核と下唾液核等の脳幹内自律神経関連諸核について扁桃体(中心核)との神経線維連絡および免疫組織化学的研究を中心に話をした。

前述した自律機能異常がアルコールおよびMAP中毒において脳のどの領域の組織学的ダメージにより発症するか、血管透過性の面から検討を行うため、その実験手技、電顕的観察および実験結果の考察に関して指導を行った。実験手技としては、まず、脳組織における神経細胞障害を検索するためグリア細胞の変化をみるGFAP免疫染色を施した(抗

G F A P 抗体：以下、下線部は実験に使用するため購入した薬品を示す)。この染色では主として動物実験(アルコール投与方法とM A P 腹腔内注入法)と反応時の諸注意(一次抗体、二次抗体の濃度、Normal goat serum: NGSの免疫反応制御およびA B C 反応)の説明を行った。さらに、血管透過性の実験としてHorseradish peroxidase (HRP)の投与方法およびHRPの電顕組織への応用(E P O N 樹脂包埋)に関して詳細な説明を加えた。とくにこの中ではHRP反応産物の安定性について、Diaminobenzidineと Tetramethyl benzidine法使用時におけるアルコール脱水とアセトン脱水の適用の違い、また、モリブデン酸アンモニウム溶液使用に関して実際、実験を通じて結果を比較対照し説明を行った。

G F A P 陽性所見は海馬、大脳皮質、扁桃核、レンズ核等で見られたが、これらの領域の内、とくに海馬ではHRP法による血管透過性領域とも一致したため、まずこの領域をE P O N 樹脂包埋し電顕的観察に付した(添付資料3、4、5、6)。

実験結果およびその考察として、脳組織は海馬外側部(C A 1 外側~C A 2 ~C A 3 外側)を対象としHRPを大腿静脈内に注入し、30分後に動物を灌流固定し当該領域を電顕的観察に付した。電顕所見ではHRP反応産物は高電子密度の顆粒として認められ、血管内皮細胞内には大小さまざまな反応産物が存在した(添付資料7、8)。また、このような所見を示す血管の近傍には、同様、HRP反応産物を含むグリア細胞が特徴的に存在した(添付資料9、10)。なお、血管内皮細胞間の細胞間隙にはHRP反応産物は全く認められなかった。以上の所見を総合し考察を行うと、海馬外側部においては静脈内に注入されたHRP酵素が血管内皮細胞に取り込まれ、さらにこの細胞を通過し脳実質内にあるグリア細胞まで達することが明らかになった。これはアルコールおよびM A P 中毒における海馬領域では、正常では血液脳関門(Blood-brain-barrier: BBB)が働いている場所でBBBが破壊されていることを示すものである。BBB破壊は、例えば覚醒剤中毒患者における逆耐性現象(過敏反応性)の発症を血管透過性亢進という一側面から説明する科学的根拠の提供ができるものと考えられる。今回の実験では血管透過性が亢進している場所として海馬以外に大脳皮質、扁桃核、レンズ核があげられているが、これらの領域における詳細な観察はなされておらず、今後、電子顕微鏡等を駆使し中国の脳研究所の呂永利教授をはじめスタッフの方々と脳組織の全体像を明らかにする必要がある。

<訪問地の状況・課題>

訪問先である中国医科大学脳研究所では若いスタッフも多く、精力的に研究を行っていた。近年、我が国をはじめ欧米に留学する研究者が増え非常に喜ばしい状況になりつつあるが、反面、留学先でそのまま現地のスタッフとなり帰国しない人も多く中国本国の研究レベルをアップするための人材不足に悩んでいる側面もあった。

G F A PおよびH R P組織標本の作製については中国医科大学脳研究所においても従来から行われていることであり、非常に良好に実施された。電顕的観察については主としてH R P反応産物の同定についてであり、脳研究所のスタッフに対しては、無染色下（ウラニール染色のみ）でどのように高電子密度の反応産物が観察されるかという点をとくに強調して説明した。

課題については何と言っても研究テーマである血管透過性の亢進領域において、①どのような物質が脳組織内に入るか ②そのB B B破壊域と侵入した物質によりヒトで見られるような多彩な臨床症状発現（アルコール中毒においては中枢神経系機能抑制、運動障害、呼吸・循環器系、腎、消化器・肝に対する障害。また、M A P中毒においては気分高揚、誇大妄想、過覚醒、不眠、多弁、精神運動興奮等の精神状態や散瞳、頻脈、不整脈、血圧上昇、発汗および頭・肩・四肢のヒョレア様不随意運動、幻覚、失見当の身体症状や抑うつ、疲労感、睡眠障害等の離脱症状）と密接な関連性が確立されるかどうかである。この点の確立は臨床上非常に重要なものであり、将来アルコールおよび覚醒剤中毒症（含：離脱症状）の治療にも大いに貢献するものと期待できる。今回は血管透過性を海馬の領域で証明したにすぎず、今後、中国医科大学脳研究所のスタッフとの共同研究が益々必要とされる。

<今後の交流計画>

本研究は最終的にはアルコールや覚醒剤依存症患者の多彩な臨床症状を血管透過性の面から分子病態学的に解明を行うことであり、そのため相当長期にわたる共同研究期間が必要とされる。概略ではあるが、将来5年間程度を目安にして以下の順で交流計画を考えている。

- 1 アルコールおよびM A P依存症モデル実験動物の脳組織における血管透過性領域の微細構造の解明 (中国医科大学脳研究所)

- 2 血管透過性亢進にともなう易浸透性物質の同定およびその物質による脳組織への障害
(香川医科大学第一解剖学、中国医科大学脳研究所)
- 3 モデル実験動物において血管透過性抑制物質の検索 (香川医科大学第一解剖学)
- 4 血管透過性抑制物質投与時のモデル実験動物の病態学的変化
(香川医科大学第一解剖学、中国医科大学脳研究所)

<謝辞>

この度、日中医学協会のご援助により中国医科大学脳研究所において多大な研究協力および成果をあげることができました。ここに貴協会理事長 中島 章様はじめ関係各位の皆様のご協力に対し深く感謝申し上げます。



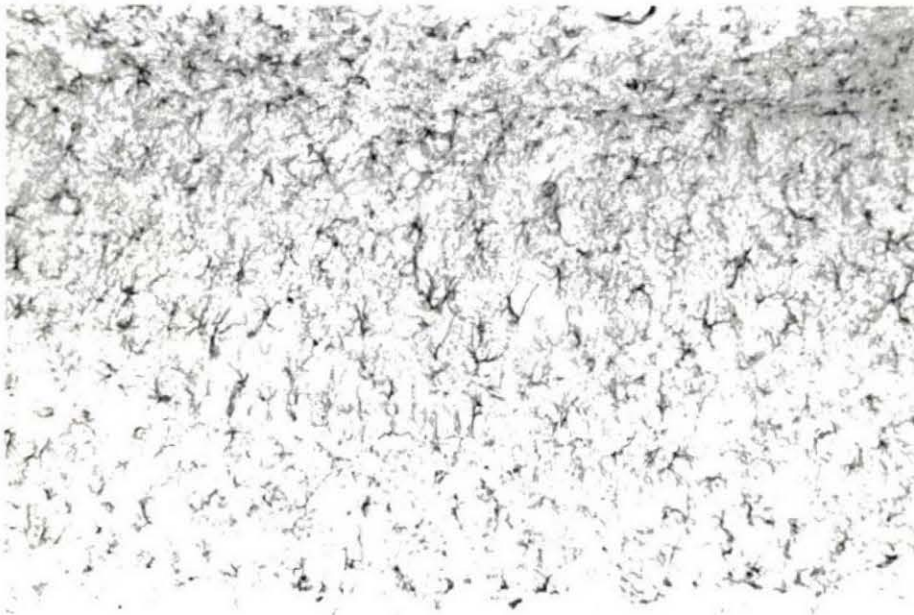
資料 3
海馬外側における血管透過性亢進領域
(右側海馬、黒色部)



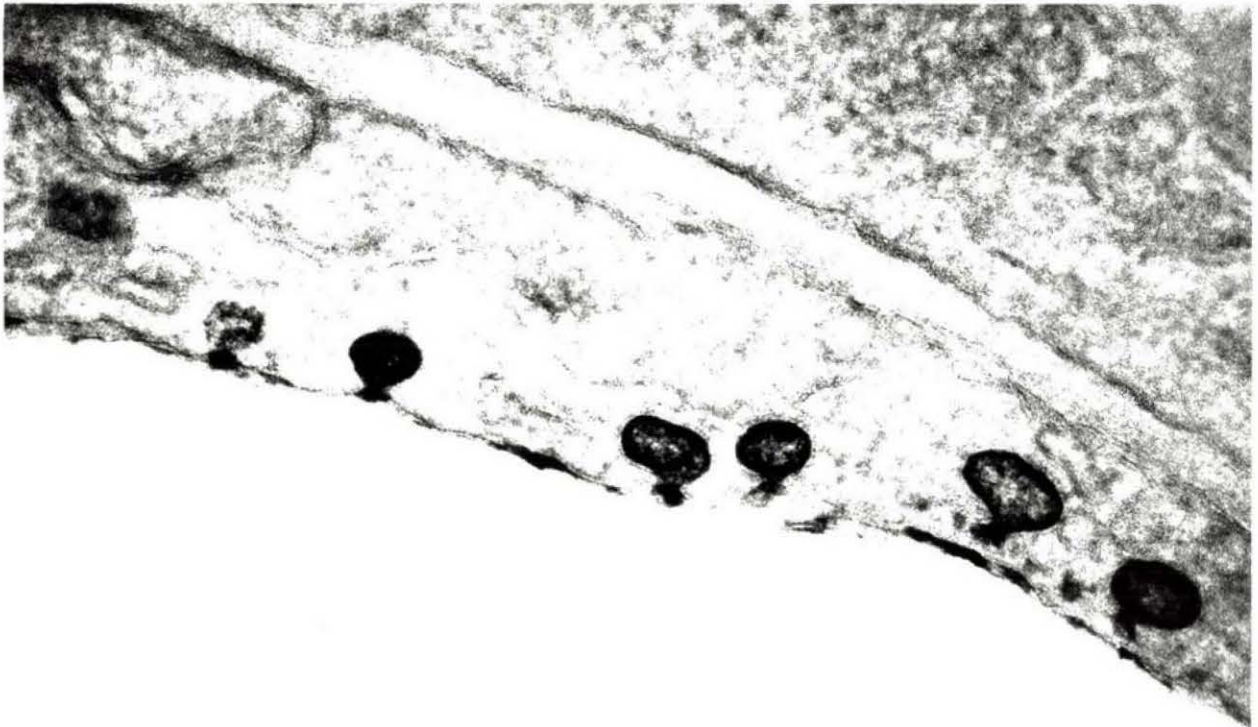
資料 4
海馬外側における血管透過性亢進領域
(左側海馬、黒色部)



資料 5
海馬領域におけるGFAP免疫反応陽性所見



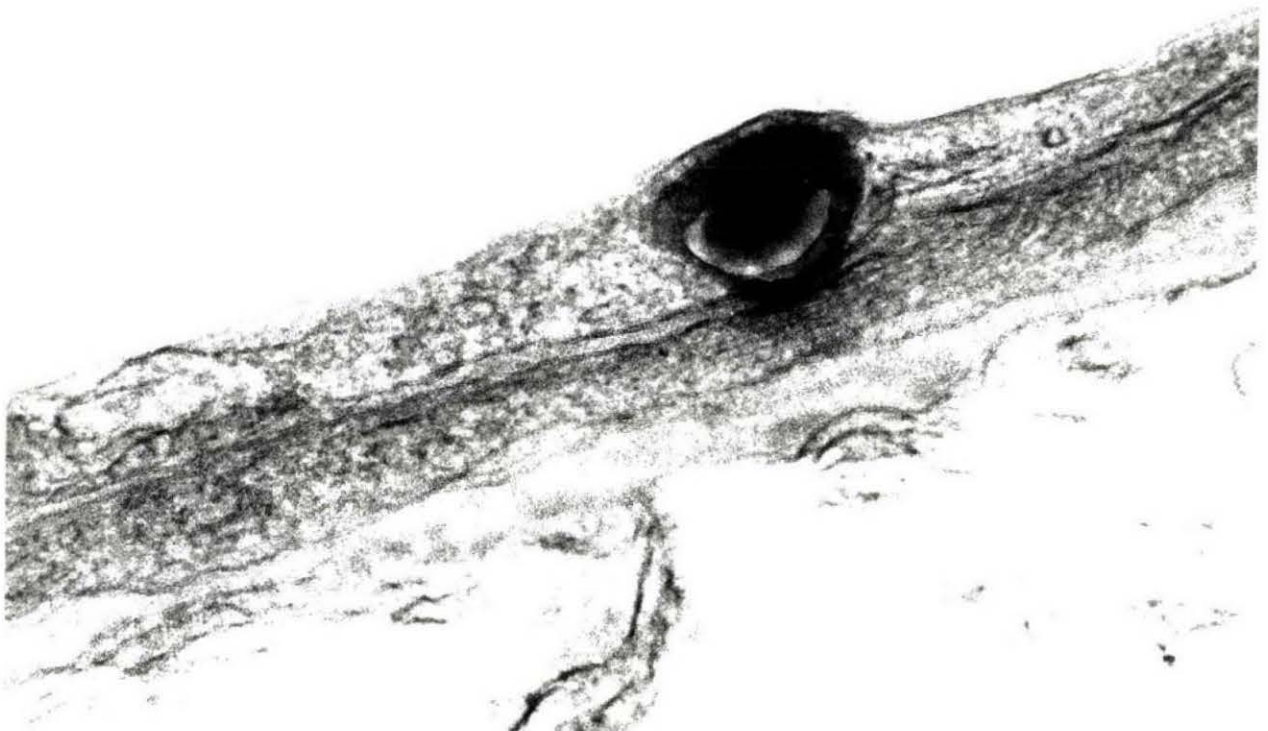
資料 6
海馬領域におけるGFAP陽性グリア細胞増殖所見



資料 7

海馬外側の血管透過性亢進領域における電子顕微鏡所見

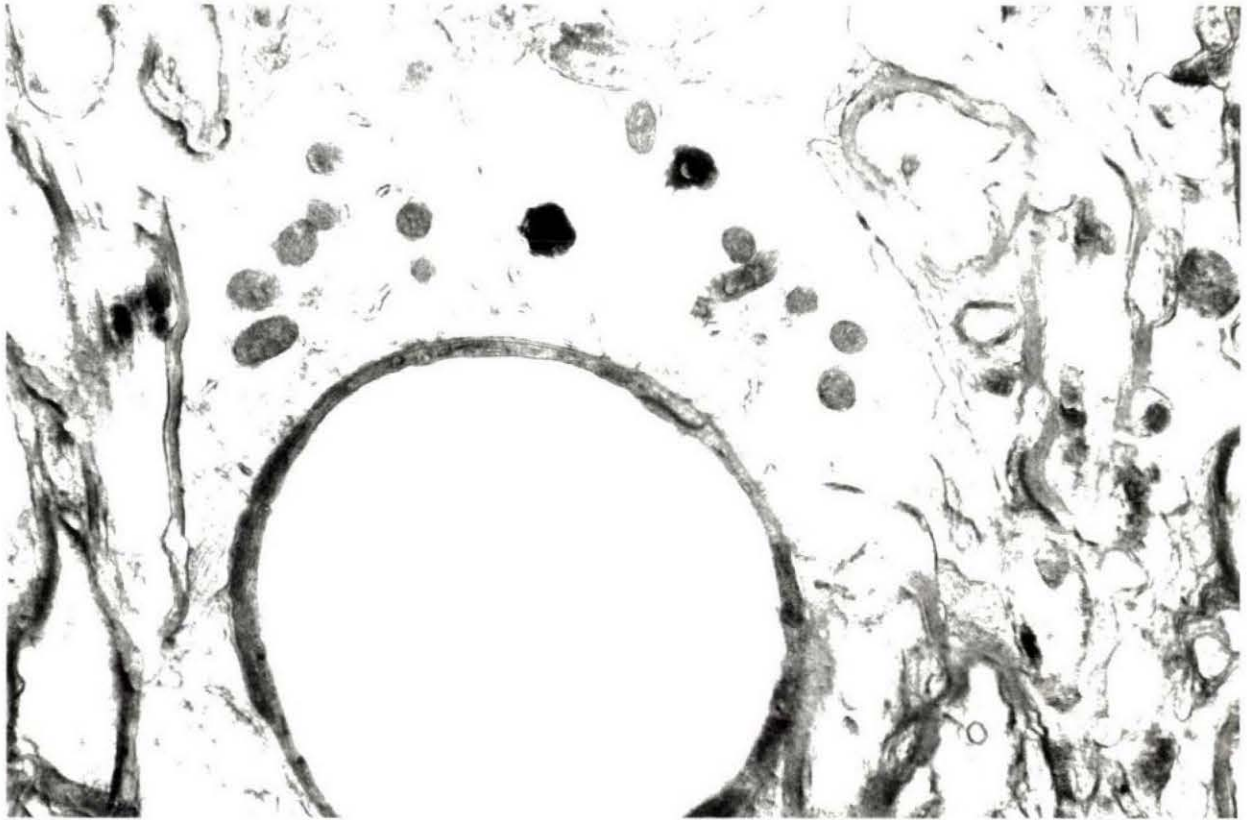
血管内皮細胞に取り込まれているHRP反応産物は高電子密度の顆粒として認められる



資料 8

海馬外側の血管透過性亢進領域における電子顕微鏡所見

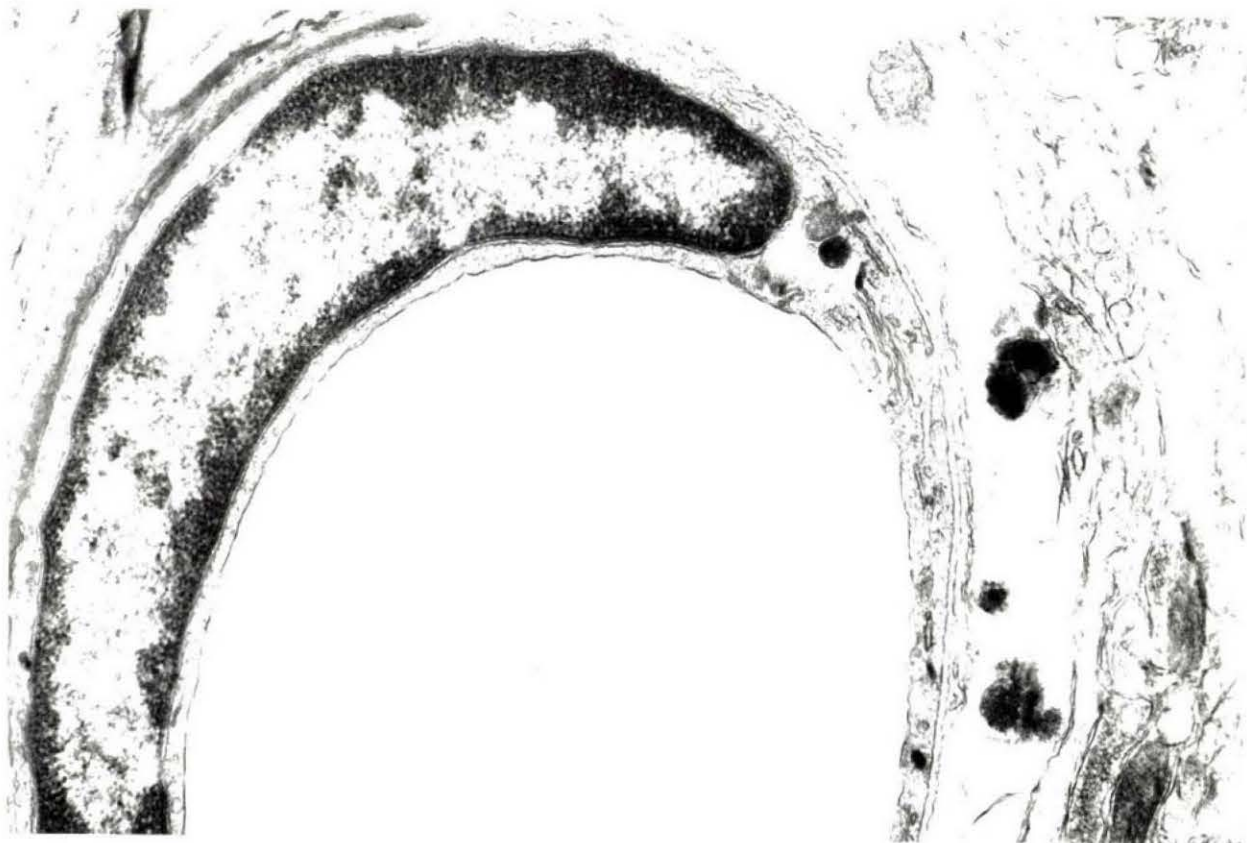
血管内皮細胞に取り込まれているHRP反応産物



資料 9

海馬外側の血管透過性亢進領域における電子顕微鏡所見

HRP反応産物は血管周囲のグリア細胞に取り込まれている



資料 10

海馬外側の血管透過性亢進領域における電子顕微鏡所見

HRP反応産物は血管内皮細胞と隣接するグリア細胞に取り込まれている