

平成13年度美原賞受賞業績要旨

神経細胞脱分極と微小循環障害

臨床的な意義

慶應義塾大学医学部神経内科客員教授

富田稔

脳卒中はいまだにやっかいな疾患の一つである。とくに脳梗塞は死亡率こそ減少したが、発病率は相変わらず高く、それによる患者の機能廃絶は家族に負担、国に負担をしいて、大きな社会問題になっている。その虚血部位の病態の詳細はまだ十分に解明されていない。私たちはこの病態を神経細胞の脱分極と虚血組織血流の測定という二つの面から検討した。要約から始めると、脳虚血時には神経細胞の脱分極とともに、脳細胞膨化の大きな熱力学的なポテンシャル、浸透圧効果があらわれ、組織圧、脳圧を高め、微小循環系の圧迫とあいまって病態を著しく悪化させることを見出した。このポテンシャルの記載は私たちのもの以外にはまだ報告がなく、ここに詳細にのべる。まず神経細胞の脱分極と細胞膨化の関係から始める。細胞の分極とはリン脂質膜両面における陰陽イオンの2重層の形成であり、熱力学からみればエネルギーの蓄積の一形態であり、細胞機能遂行のための電池(平均 -60mV)であるといえる。細胞膜にある多くの装置は、このポテンシャルを小出しにして働くものである。すなわち、神経細胞は毛細血管血液から燃料の補給を得て、代謝によりATPを産生し、そのエネルギーを使って高い分極状態を保ち、いつでも機能(放電)できる状態となっている。細胞が機能すると、その細胞は膨らむ(1)。機能に伴って細胞膜を貫通するチャンネルが開き、Naのみならず、水がNaに引きずられてチャンネル(グリア細胞にはアクアポリン4があり、水が別のチャンネルを通る可能性もある)を通して、一過性に細胞内になだれ込むためである(2)。これは虚血における細胞の脱分極も同様である。しかし虚血部の細胞は脱分極を起こしても微小循環系が傷害されているために燃料の補給がなく、脱分極から回復できずに細胞は膨化し続ける。この神経細胞脱分極はそれを取り巻くグリア細胞に伝えられて、通常血管周囲のグリア細胞突起の膨化として観察される。ラットのneuroblastoma(N18)とastrocytoma(C6)のosmotic shockによる膨化様式を観察すると、N18は部分的に膨化して細胞膜が破れる。神経細胞がplasmolysisをすぐ起こすのに比べて、グリアは細胞容積が数倍膨化しても細胞膜は破れない(3)。グリアの細胞膜が丈夫なのであろう。いずれにしても、これら細胞の膨化は蓄積エネルギーの自発的な放電によるものであって、外部からの新たなエネルギーの供給によるものではない。では何故細胞は膨らむのか。細胞膜は、蛋白質が充満している細胞内液と、蛋白質が少ない細胞外液を隔てていて、細胞膜には高い膠質浸透圧が常に負荷されている

状態にある。私たちはその膠質浸透圧の大きさを測定した。髄液と脳ホモゲネートを copper ferrocyanide 半透膜で隔てた場合、その圧は 213 mmHg (5)、脳組織切片を用いた場合の osmotic potential (人工髄液の中で組織切片の膨化を防ぐ圧)は 576 mmHg (6)であった。本来ならば薄い細胞膜はこのような大きな圧力により、膨化してすぐ破れてしまうはずである。そこで細胞は小イオンを細胞内から外部に汲み出して、膜にイオン勾配を形成(上記電池形成)することにより、高い膠質浸透圧に対してバランスを保ち、薄い細胞膜でも圧が保持できるようにしているのである。イオン勾配は浸透圧勾配であり、これは光学的に反射、あるいは透過光により測定可能である。この状態は非常に不安定であり、逆にいうと、この不安定さこそが、刺激に即応できる生体膜を形作っているともいえる。難解なのは、脱分極 膨化の際の浸透現象が、細胞膜を介して、等圧、等浸透圧、等温の条件下において起るという事実である。ではその浸透現象の駆動力は何か。これは古典的熱力学では説明できず、新しい非平衡熱力学の Na イオンの反撥係数(σ)の変化(溶質の選択的膜透過)の概念の導入によってのみ説明ができる(1)。Na による浸透圧勾配がなくなったために、膠質浸透圧とのバランスが崩れたのである。これは Na のチャンネルの大きさ(σ)を、キャプテターのように開閉するだけで溶液の移動が調節できるのである(2)。神経細胞は絶えず外界からの刺激を感知し、その情報を処理し、個体が常に外界に適応できるように努めている。この神経細胞の機能維持にはエネルギーを要し、微小循環系から絶えず燃料が補給されなければならない。それには細胞の機能に応じて微小循環血流量がうまく変化してくれなくてはならない。脳血管障害がおこると、神経細胞の要求にもかかわらず循環系からの補給がなされず、神経細胞は脱分極、細胞膨化(細胞性浮腫)が進行する。やがて放電により膜電池は枯渇し、神経細胞も機能障害、組織障害が回復不能となり、組織は変性に陥る。

脳細胞脱分極に伴う毛細血管レベルの血流変化は方法論的な困難さもあって、まだよく解明されていない。私たちは独自の血流測定法(7)を開発し、組織血流を測ることに成功した。動物の脳皮質の血液含量を透過光(波長 550 nm)により連続的に記録、それと同時に頸動脈から血液のマーカーを注入して、その組織希釈曲線を描き、組織血流を測定するものである。その原理は 1979 年に報告したが(7)、最近の改良型(8)では小動物の脳皮質上被測定部位の 50x50 マトリックス(1ピクセル 40 μm x 40 μm)において、微小血流の測定を可能にしたものである。これによりその領域の毛細血管レベルでの血流ヒストグラムを描くことができた。この微小血流のヒストグラムを統計学のモーメント分析を行い、微小循環パラメーターの抽出を試みた(9)。神経細胞脱分極の際の微小循環変化を検討するには、カリウム誘発神経細胞脱分極の波状伝播現象(spreading depression)がよい実験モデルを提供してくれる。私たちはその際の組織血流の変動との相関を調べた。その結果、動脈末端部の毛細血管血流調節から独立した“脱分極神経細胞独自の毛細血管調節機序”があることを見出した(10)。さらに小動物での細動脈閉塞による虚血直後の血流変化を分析すると、著しく遅い血流分画(スターシス)があり、このスターシスは時間とともに広がった(11)。スターシスは、すでによく知られているように、脳血管内皮細胞表面に接着分子の発現とともに、活性化された血小板、白血球との粘着が観察された。血液自体も赤血球凝集、粘度の亢進とともに

“ヘドロ化”が見られ、内皮細胞表面ではフィブリンの析出、網状塊が形成され、微小循環系における強固な閉塞(no reflow) が観察された。スターシスの改善は虚血早期に還流圧上昇による微小循環再構築がすべてと思われた。

以上を要約すると、神経細胞は、細胞膜において小イオンによる脱分極/再分極により機能しているが、循環障害時では酸素、燃料の補給が絶たれ、脱分極から分極への回復が困難となる。この神経細胞脱分極は隣接するグリア細胞に伝えられ、グリア細胞の膨化として観察される。その膨化の原動力となる細胞内膠質浸透圧は 213-576 mmHg にも達する。この圧力が組織圧の上昇、微小循環系への圧迫、脳の不可逆的な障害(脳死)をもたらす原因であると結論した。

文献

- 1) Tasaki I, Nakaya T, Byrne PM: Rapid swelling of neurons during synaptic transmission in the bullfrog sympathetic ganglion. *Brain Res* 331(2): 363-365, 1985
- 2) Tomita M, Gotoh F: Cascade of cell swelling (cytotoxic edema): Thermodynamic potential discharge of brain cells following membrane injury. *Am J Physiol* 262: H603-H610, 1992
- 3) Tomita M, Fukuuchi Y, Terakawa S (1994) Differential behavior of glial and neuronal cells exposed to hypotonic solution. *Acta Neurochir. (Suppl.)* 60: 31-33
- 4) Nagasawa, M., Tasaka, M., Tomita, M.: Coupled transport of water and ions through membranes as a possible cause of cytotoxic edema. *Neurosci Lett* 66: 19-24, 1986
- 5) Tomita M, Gotoh F, Kobari M: Colloid osmotic pressure of cat brain homogenate separated from autogenous CSF by a copper ferrocyanide membrane. *Brain Res* 474: 165-173, 1988
- 6) Tomita M, Gotoh F, Yamamoto M, Amano T, Tanahashi N, Tanaka K: Determination of the osmotic potential for swelling of cat brain in vitro. *Exp Neurol* 65: 66-77, 1979
- 7) Tomita M, Gotoh F, Sato T, Amano T, Tanahashi N, Tanaka K, Yamamoto M: Photoelectric method for estimating hemodynamic changes in regional cerebral tissue. *Am J Physiol* 235: H56-H63, 1978
- 8) Schiszler I, Tomita M, Fukuuchi Y, Tanahashi N, Inoue K: New optical method for analyzing cortical blood flow heterogeneity in small animals - validation of the method. *Am J Physiol* 279: H1291-1298, 2000
- 9) Tomita M, Gotoh F, Amano T, Tanahashi N, Kobari M, Shinohara T, Mihara B: Transfer function through regional cerebral cortex evaluated by a photoelectric method. *Am J Physiol* 245: H385-H398, 1983
- 10) Tomita M, Schiszler I, Fukuuchi Y, Amano T, Tanahashi T, Kobari M, Takeda H, Tomita Y, Ohtomo M, Inoue K. A time-variable concentric wave-ring increase in light transparency and associated microflow changes during a potassium-induced spreading depression in the rat cerebral cortex. In *Neuronal Activation and Microcirculation*. M. Tomita, K. Kanno, E. Hamel, Eds., Elsevier Science, B.V.,

International Congress Series 1235, Amsterdam, 2002, pp439-447

- 1 1) Tomita Y, Tomita M, Schiszler I, Amano T, Tanahashi N, Kobari M, Takeda H, Ohtomo M, Fukuuchi Y, Moment analysis of microflow histogram in focal ischemic lesion for microvascular derangement following small pial arterial occlusion in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2002;22:663-669