

前下小脳動脈循環障害と平衡覚・聴覚機能に関する実験的研究

奈良県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

乾 洋 史

STUDY OF THE EQUILIBRIUM AND HEARING FUNCTIONS IN THE ANTERIOR INFERIOR CEREBELLAR ARTERY DISORDERS IN THE RAT BRAINSTEM

HIROSHI INUI

Department of Otorhinolaryngology, Nara Medical University

Received July 29, 1994

Abstract: Regional brainstem blood flow and brainstem functions were measured after permanent unilateral anterior inferior cerebellar artery (AICA) occlusion in the rat brainstem using an autoradiographic technique, Laser-Doppler method, Caloric test and auditory brainstem response (ABR). Morphological ischemic changes were assessed using immunohistochemical observation.

The results were as follows:

1. Two hours after occlusion of the unilateral AICA, blood flow in the ipsilateral vestibular nucleus (VN) revealed a 75% recovery, while the blood flow in the ipsilateral cochlear nucleus (CN) recovered to the control level. The increase in the blood flow from the collateral circulation was measured by the Laser-Doppler method when the unilateral AICA was occluded. The increase rate of blood flow in the brainstem showed a maximal increase of 33%.

2. It was possible to assess brainstem function using ABR. Three types of ABR waves were classified when the unilateral AICA was occluded. It was thought that all components re-appeared in type 2 because the cochlear blood flow was re-established quickly by collateral circulation. Even in contralateral recording of ABR, dysfunction of the brainstem was observed. The characteristic findings included a significant increase in the inter-peak latency between components I - IV and IIb - IV.

3. From immunohistochemical observation using Microtubule-associated protein 2 (MAP 2), ischemic lesions were clearly detected as a loss of reaction in the nerve cell bodies, dendrites and neuropils in the unilateral VN and CN. The changes two hours after occlusion of the ipsilateral AICA were more comprehensive than those thirty minutes after occlusion.

4. From our findings, a discrepancy in recovery between blood flow and function in the brainstem is indicated.

Index Terms

anterior inferior cerebellar artery, brainstem, blood flow, function

はじめに

平衡感覚や聴覚の受容器である内耳からの神経興奮は第8脳神経を介して脳幹に位置する前庭神経核(VN)、蝸牛神経核(CN)に至り、さらに上位中枢である大脳前庭野、聴覚野に至る。末梢器官である耳石器、半規管や蝸牛は前前庭動脈、前庭蝸牛動脈から分枝する後前庭動脈や固有蝸牛枝により栄養されているが、これらの多くは前下小脳動脈(AICA)より分枝した内耳動脈(IAA)からの小枝である^{1),2)}。また我々の過去の観察において、VNはAICAからの脳幹穿通枝と脳底動脈(BA)からの脳幹正中穿通枝により栄養され、CNはAICAからの外側回旋枝により栄養されていることを報告した^{3),4),5)}。すなわちAICAはこれらの神経核にとっても主要な栄養動脈であるといえる。

臨床的にも椎骨脳底動脈系の血流障害により椎骨脳底動脈循環不全症(VBI)が起こり、その結果めまいや平衡障害、難聴が起こる事がよく知られている。また最近では画像診断の発達等により前下小脳動脈症候群(AICA syndrome)についての報告もみられる。

実験的AICA閉塞時の末梢蝸牛の機能変化についてはKonishi et al.⁶⁾、姜・伊藤⁷⁾、Ito⁸⁾の報告にみられるが、一側AICA閉塞時の脳幹部VN、CNの血流変化やそれともなう脳幹機能の評価についてはほとんど検討されていない。今回の研究の目的は一側AICA閉塞モデルを作成し、第一に同モデルの脳幹部血流量と脳幹機能の変化との関係、第二に免疫組織学的検討によりAICA閉塞時のVN、CNの細胞障害性を評価することにある。過去に報告した一側AICA閉塞時の脳幹部血流量変化^{9),10)}も含めて報告する。

実験方法

実験動物として68匹の雄Wistar系ラット(体重300~350g)を使用した。

I. 脳幹部血流量と脳幹機能との関係

1. 一側AICA露出時におけるphysiological parameterの変化

実験には5匹のラットを用い、すべての操作はネンブタール(sodium pentobarbital)300mg/kg腹腔麻酔により行った。動物を仰臥位として頸部正中切開により気管切開し、気管カニューレを挿入、調節呼吸とした後に顕微鏡下に左大腿動脈よりpolyethylene catheter (Intramedic®, Clay Adams社、PE-50)を挿入した。喉頭摘出、深頸部の筋肉群を剥離し頭蓋底を露出し、頭蓋底は骨削開用ドリルにて削開、直径1mmの小窓を作

成し、左AICAを明視下にした。動脈血採取は、カニューレション終了後とBA、AICA露出後に行い体温(B. T.)、pH、PaCO₂、PaO₂、Saturation、平均動脈圧(MABP)を測定した。

2. 一側AICA閉塞時のAICAより尾側の外側回旋枝の血流量の変化

この実験には5匹のラットを使用した。上述のとおり左AICA露出後、Watson法¹¹⁾に従いAICA閉塞を行った。すなわち静脈カニューレよりローズベンガル溶液(20mg/kg, Katayama Chemicals)を注入しAICAにキセノン光(L4887: Hamamatsu Photonics. E5367: optic fiber. 6500-7500 Lx, 450 nm)を照射する方法であり、閉塞の確認は顕微鏡下に肉眼的に行った(Fig. 1, a)。また左AICAと同側でAICAより尾側の外側回旋枝を露出し、硬膜を温存した状態でこの回旋枝の血流量をlaser-doppler血流計(ALF 21, Advance社。probe: No 86539, Advance社)により測定した。

3. オートラジオグラフィによる局所脳幹部血流量(rBsBF)の測定^{9),10)}

1) 方法

局所脳幹部(後述)血流量を測定するため24匹のラットを以下の4群に分けて検討した。

第I群(control群, n=6): 上述の方法で左AICAを露出、AICAは閉塞しない群。

第II群(左AICA30分閉塞後, n=6): 上述の方法で左AICAを閉塞した後、30分間照射続行した群。

第III群(左AICA2時間閉塞群, n=6): 第二群と同様で2時間照射を続行した群。

第IV群(左椎骨動脈(VA)30分閉塞群): 大後頭孔と頸椎間の硬膜を露出、左VAを顕微鏡下に明視下とし30分間VAに照射を続行した群(Fig. 1. b)。

2) 血流量の測定

測定はSakuradaらの方法¹²⁾に従った。各群の動物の静脈より100μCi/kgの¹⁴C-iodoantipyrine (¹⁴C-IAP) (Amersham)を1.5mlの生理食塩水で希釈し、それをシリンジポンプ(Model pump 22; Harvard Apparatus)を用い30秒間で注入した。同時に動脈より2秒間隔で0.02~0.05mlの採血を行った。この動脈血より液体シンチレーションカウンター(Beckman LS 7500)にて経時的動脈血中RI濃度を測定した。¹⁴C-IAP注入後ただちに多量のネンブタールを静注し断頭して脳を摘出し、-70°Cの液体フロンにて凍結固定を行った。凍結脳はクリオスタット(Bright社)で20μmの切片を作製しカバーガラス上にとりホットプレートにて乾燥、¹⁴Cスタンダード(ARC-146 A; American Radiolabeled

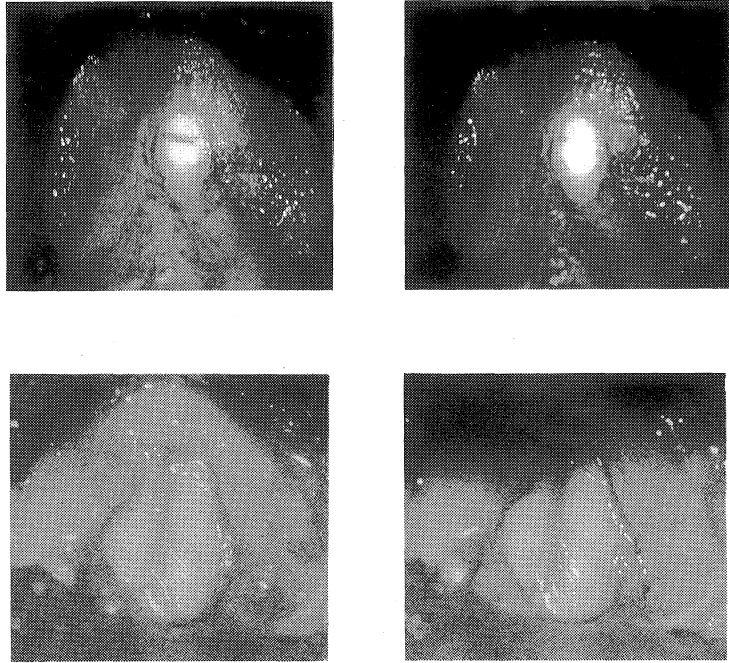


Fig. 1. a. Operative exposure of the left AICA before (left) and after (right) occlusion.
b. Operative exposure of the left VA before (left) and after (right) occlusion.

Chemicals, Ins.)とともに Kodak X-OMAT AR Film に密着させ、Kodak Ektamat Fast Screen 付属のカセット内で autoradiogram を作製した。この autoradiogram と血中 RI 濃度曲線を用いて MCID (Micro Computer Imaging Device ; Imaging Research, Inc., Canada) により局所脳血流量を求めた。連続切片の一部は H. E 染色を行い測定領域の解剖学的位置の同定¹³⁾に用いた。局所脳血流量の測定領域は両側 frontal cortex, parietal cortex, thalamus, hippocampus, vermis, superior olive, VN, CN とした。

4. 一側 AICA 閉塞時の温度刺激検査の評価

第3項のモデル(n=6)を用いて温度刺激検査を行うことにより平衡機能の評価を行った。第3項II群のモデルについて血管閉塞30分後、頸部、大腿部切開を縫合し麻酔から完全に覚醒したことを痛覚刺激と動物の行動により確認した。動物の頭部が40°前屈位となる固定台に固定し、刺激は0°Cの冷水5mlを外耳道から用手的に5秒間で注入することにより行った。測定項目は眼振持続時間のみとし、閉塞側と非閉塞側、実験前と後で比較した。なお実験終了後左AICAが閉塞されていることを顕微鏡下に確認した。

5. 一側 AICA 閉塞時の聴性脳幹反応(ABR)の評価
ABRを用いて聴覚機能からみた脳幹機能を検討した。

1) 方法

18匹のラットを以下の2群に分けた。

L群(n=13)：AICA閉塞側(左側)と音刺激側(左側)が同側である群

R群(n=5)：AICA閉塞側(右側)と音刺激側(左側)が異なる群

2) ABR 記録

ラットの両外耳道に ear phone (NEC Sanei Type 45408) を装着し、針電極を用いて頭頂一耳介誘導とした。音刺激は9.5 Hz のクリック、100 dB SPL とし、masking として70 dB を与えた。シグナルは signal processor (NEC Sanei 7S12, フィルター：50~6 kHz, 加算回数：500回)にて処理を行った。AICA閉塞までは上述のとおりの手術、血管閉塞方法であり閉塞前(pre.)、閉塞直後(0)、2分、6分、15分、30分、40分、60分後のABRを記録した。記録はディスクに保管し各波の潜時と波間潜時について検討した。

II. 免疫組織学的手法によるVN, CNの細胞障害性の検討

10匹のラットを用い microtubule-associated protein 2(MAP 2)染色により一側 AICA 閉塞時の脳幹部細胞障害について検討した。上述と同様の血管閉塞方法で左 AICA を閉塞し、コントロール群, 左 AICA 30分閉塞群, 左 AICA 2時間閉塞群に分類した。閉塞終了後直ちに断頭し脳幹部を約5mmのブロックとし4°C, ethanol-glacial acetic acid (19:1)にて固定した。固定後パラフィン包埋し5µmの連続切片を作製, H. E 染色と peroxidase-antiperoxidase 法により免疫組織学的検討を行った。なお今回の実験には一次抗体として anti-MAP 2 mouse serum (1:100, Amersham)を用い, さらに

hematoxylin にて counterstaining することにより細胞核染色を行った。観察は光学顕微鏡下に行った。

結 果

I. 脳幹部血流量と脳幹機能との関係

1. 一側 AICA 露出時における physiological parameter の変化

カニューレーション終了直後と BA, AICA 露出後の physiological parameter の変化を Table 1 に示す。これらは手術操作により有意な変化は示さなかった。

2. 一側 AICA 閉塞時の尾側の外側回旋枝の血流量

Table 1. Physiological parameters during operation (n = 5)

	After the cannulation of the femoral a. and v.	After the exposure of the basilar a.	p
B. T. (°C)	36.4 ± 4	36.7 ± 6	N. S.
pH	7.375 ± 0.064	7.364 ± 0.027	N. S.
PaCO ₂ (mmHg)	32.5 ± 2.4	30.5 ± 5.6	N. S.
PaO ₂ (mmHg)	103.9 ± 8.9	112.6 ± 11.2	N. S.
Saturation (%)	97.8 ± 0.9	97.9 ± 0.9	N. S.
MABP (mmHg)	101 ± 9	97.5 ± 6.5	N. S.

Values are means ± SD.

B. T. : body temperature. MABP : mean arterial blood pressure.

N. S. : not significant.

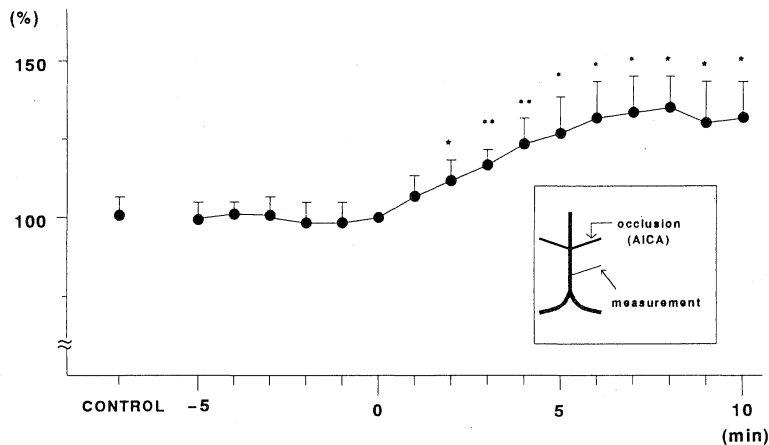


Fig. 2. Blood flow measurement in the other branch of the BA.

BA : Basilar artery

Values are means ± SEM.

Measurements were made by Laser-Doppler flowmetry.

" 0 min " indicated the time when occlusion of the left AICA was completely done.

* : Significantly different at the p < 0.05 level (vs. value of time 0).

** : Significantly different at the p < 0.01 level (vs. value of time 0).

の変化

左 AICA と同側で AICA より尾側の外側回旋枝の laser-doppler による血流量の変化を Fig. 2 に示した。AICA 閉塞時を 0 分、その時の回旋枝の血流量を 100 % として増加率を 1 分毎に測定した。AICA 閉塞 2 分後に回旋枝の血流量は有意な増加を示しその後もすみやかに増加、約 8 分後には最高で 33 % の血流増加を示した。肉眼的にも回旋枝は AICA 閉塞直後よりその直径が増した。

3. オートラジオグラフィ法による局所脳幹部血流量 (rBsBF) の測定 (Table 2)

第 I 群では今回測定した領域に左右差なく、VN 領域は右 1.70 ± 0.25 (ml/g/min, means \pm SEM, 以下同様), 左 1.66 ± 0.22 , CN 領域は右 1.54 ± 0.27 , 左 1.45 ± 0.22 であった。第 II 群では hippocampus ($p < 0.05$), superior olive ($p < 0.05$), VN ($p < 0.05$), CN ($p < 0.01$) の血流量に左右差が認められた。第 I 群左側との比較で

第 II 群左側 VN は 38 % の血流低下, CN は 50 % の血流低下 ($p < 0.05$) を示した。Autoradiogram でも特徴的な結果が得られた。左 AICA 閉塞により脳幹左側に広範な血流低下領域が認められ、またその血流低下領域に一部血流の保たれた部位が存在した。第 III 群で左右差が認められた領域では thalamus ($p < 0.05$), superior olive ($p < 0.01$) であり, VN, CN に左右差は認めなかった。第 II 群との比較では VN 領域の血流量は 75 % (対第 I 群左側) までしか回復しなかったのに対し, CN 領域はすでに第 I 群左側のレベルにまで回復した。Autoradiogram では脳幹左側のキセノン光の照射部位に一致した領域にやや血流低下部位を認めるのみで、第 II 群に見られた広範な血流低下領域には血流の回復を認めた。第 IV 群では血流量に左右差なく、第 I 群との比較でも血流量の差は認めなかった。

4. 一側 AICA 閉塞時の温度刺激検査の評価

6 匹を用いた温度刺激検査の結果を Table 3 に示し

Table 2: Regional cerebral blood flow (ml/g/min) after occlusion of the left AICA or the left VA

Structure	group I		Occlusion of the AICA				group IV	
	right	left	group II		group III		right	left
			right	left	right	left		
Frontal cortex	1.49 \pm 0.12	1.47 \pm 0.15	1.30 \pm 0.10	1.23 \pm 0.11	1.64 \pm 0.14	1.54 \pm 0.04 ^d	1.22 \pm 0.13	1.17 \pm 0.10
Parietal cortex	1.70 \pm 0.20	1.57 \pm 0.20	1.37 \pm 0.15	1.38 \pm 0.20	1.53 \pm 0.07	1.59 \pm 0.09	1.23 \pm 0.12	1.09 \pm 0.10
Thalamus	1.65 \pm 0.20	1.60 \pm 0.19	1.37 \pm 0.15	1.45 \pm 0.16	1.66 \pm 0.11 ^e	1.83 \pm 0.14	1.39 \pm 0.15	1.44 \pm 0.14
Hippocampus	1.49 \pm 0.19	1.41 \pm 0.19	1.48 \pm 0.31 ^a	1.66 \pm 0.34	1.59 \pm 0.10	1.45 \pm 0.08	1.05 \pm 0.14	1.08 \pm 0.11
Vermis	1.52 \pm 0.13	1.61 \pm 0.15	1.36 \pm 0.24	1.24 \pm 0.15	1.44 \pm 0.11	1.14 \pm 0.18	1.35 \pm 0.10	1.43 \pm 0.15
Superior olive	1.78 \pm 0.20	1.70 \pm 0.21	1.60 \pm 0.21 ^a	0.97 \pm 0.15 ^b	2.13 \pm 0.13 ^g	1.13 \pm 0.11 ^c	1.55 \pm 0.11	1.70 \pm 0.11
Vestibular nucleus	1.70 \pm 0.25	1.66 \pm 0.22	1.50 \pm 0.29 ^a	1.03 \pm 0.19	1.23 \pm 0.14	1.25 \pm 0.15	1.41 \pm 0.16	1.53 \pm 0.15
Cochlear nucleus	1.54 \pm 0.27	1.45 \pm 0.22	1.37 \pm 0.29 ^f	0.72 \pm 0.16 ^b	1.60 \pm 0.09	1.44 \pm 0.19 ^d	1.15 \pm 0.22	1.20 \pm 0.18

Values are means \pm SEM.

AICA : Anterior inferior cerebellar artery

VA : Vertebral artery

group I : control group (n = 6)

group II : Measurements made 30 minutes after the left AICA occlusion. (n = 6)

group III : Measurements made 2 hours after the left AICA occlusion. (n = 6)

group IV : Measurement made 30 minutes after the left VA occlusion. (n = 6)

Significantly different at the $p < 0.05$ level

a : group II right vs. group II left

b : group II left vs. group I left

c : group III left vs. group I left

d : group II left vs. group III left

e : group III left vs. group III right

Significantly different at the $p < 0.01$ level

f : group II right vs. group II left

g : group III right vs. group III left

た。手術前検査では左右とも眼振持続時間 60 秒程度の良好な眼振が解発されたが、一側 AICA 閉塞による閉塞側の眼振持続時間は 29.2 ± 6.0 秒 (means \pm SEM), 非閉塞側は 68.2 ± 6.9 秒と閉塞側は有意に短縮した。しかし閉塞側が完全無反応になる例は 1 例のみであった。

5. 一側 AICA 閉塞時の ABR の評価

Table 3. Caloric responses (sec) after occlusion of the left AICA (n = 6)

	right	left
Control (pre-ope.)	62.2 ± 4.8	60.5 ± 5.2
Experimental	68.2 ± 6.9	29.2 ± 6.0 *

Values are means \pm SEM.

Stimulus were given at cold water (0°C, 5 ml, 5 sec).

Experimental : Measurement after the operation

*: Significantly different at the $p < 0.05$ level.

今回行った 18 匹のすべてが 4 msec までの間に I ~ IV 波まで確認できた。V 波については確認できなかった例もあり、IV 波までの検討とした。

L 群 (n = 13) の ABR 波形は下記の 3 種類に分類できた。

Type 1 (n = 4) : 同側 AICA が完全に閉塞するとすべての波が消失するもの (Fig. 3, a)

Type 2 (n = 2) : 同側 AICA が完全に消失するとすべての波は消失するが、しばらくの後に回復するもの (Fig. 3, b)

Type 3 (n = 7) : AICA が閉塞しても各波の潜時のみが延長するもの (Fig. 3, c)

このうち type 3 のみについて各波潜時、また波間潜時についての検討を行った (Table 4)。AICA 閉塞後には III 波のみ潜時の延長が認められたが、2 分後にはすべての波に潜時の延長を認めた。また 60 分後まで有意に潜時の延長を認めたのは IV 波のみであった。

波間潜時については I - II a 波間は延長せず閉塞後 30

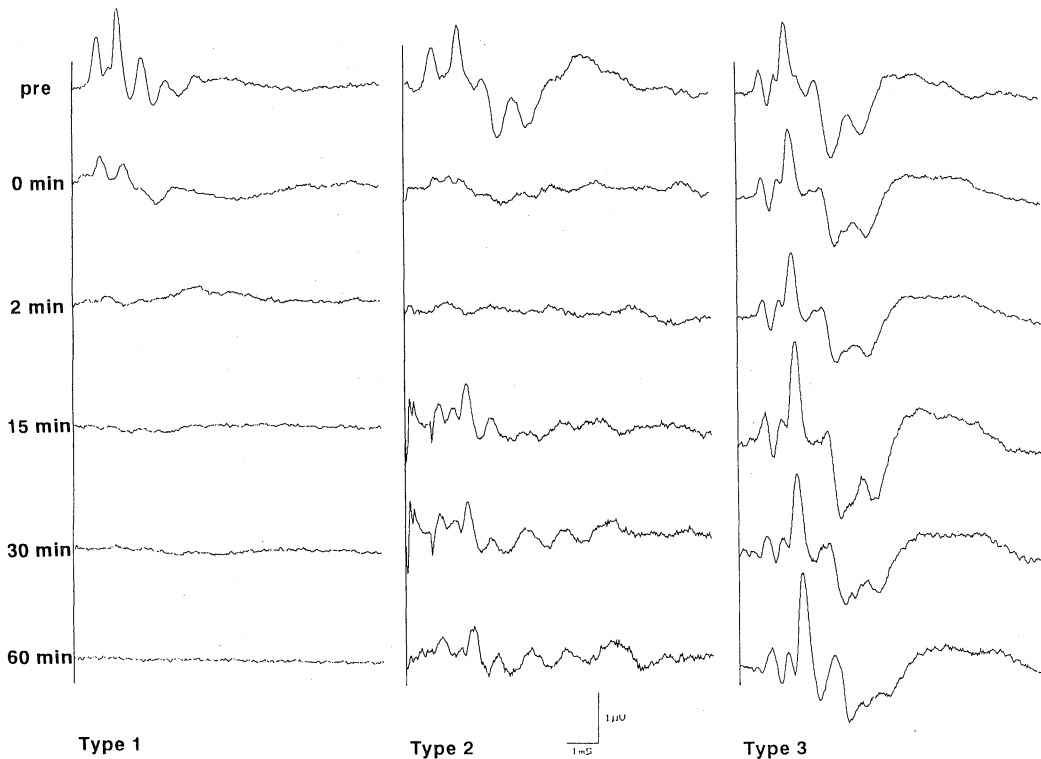


Fig. 3. Typical wave pattern of ABR. (Occlusion of the ipsilateral AICA)

- a. Type 1 After 6 min, all components disappeared.
- b. Type 2 All components disappeared transiently after 2 min, then re-appeared.
- c. Type 3 All components never disappeared.

Table 4. Latency functions (msec) of components of ABR
(Occlusion of the ipsilateral AICA, Type 3, n = 7)

time components	pre ope.	0 min.	2 min.	6 min.	15 min.	30 min.	60 min.
I	0.83±0.03	0.85±0.03	0.86±0.03 *	0.88±0.03 *	0.89±0.03	0.91±0.03	0.98±0.06
II a	1.28±0.03	1.30±0.03	1.32±0.03 *	1.36±0.04	1.35±0.03	1.37±0.03	1.46±0.06
II b	1.63±0.04	1.67±0.03	1.68±0.03 *	1.71±0.04	1.71±0.03	1.74±0.04	1.86±0.08
III	2.41±0.06	2.47±0.05 *	2.48±0.05 *	2.51±0.04 *	2.53±0.05	2.58±0.05	2.70±0.09
IV	3.29±0.08	3.39±0.06	3.40±0.07 *	3.46±0.06 *	3.46±0.06 *	3.52±0.06 *	3.70±0.08 *
I - II a	0.45±0.02	0.45±0.02	0.46±0.02	0.47±0.02	0.45±0.01	0.46±0.01	0.48±0.02
II a-IV	2.01±0.06	2.09±0.05	2.08±0.06	2.11±0.06	2.11±0.04	2.18±0.05 *	2.24±0.06 *
I -IV	2.46±0.05	2.53±0.04	2.54±0.05	2.52±0.06	2.56±0.04	2.64±0.05 *	2.72±0.05 *

Values are means±SEM.

"0 min" indicated the time occlusion was induced.

*: Significantly different at the p<0.01 level.

Table 5. Latency functions (msec) of components of ABR
(Occlusion of the contralateral AICA, n = 5)

time components	pre ope,	0 min.	6 min.	15 min.	30 min.	60 min.
I	0.81±0.01	0.82±0.01	0.84±0.02	0.84±0.03	0.85±0.03	0.86±0.04
II a	1.25±0.01	1.26±0.01	1.28±0.01	1.28±0.02	1.29±0.02	1.29±0.03
II b	1.58±0.02	1.59±0.02	1.60±0.03	1.62±0.03	1.63±0.04	1.66±0.06
III	2.35±0.04	2.42±0.04 *	2.45±0.05	2.45±0.06	2.52±0.07	2.55±0.10
IV	3.21±0.08	3.30±0.07 *	3.36±0.08 *	3.36±0.09 *	3.48±0.12 *	3.51±0.12 *
I - II b	0.77±0.01	0.77±0.01	0.76±0.01	0.76±0.01	0.78±0.02	0.80±0.02
II b-IV	1.63±0.06	1.69±0.05	1.75±0.05 *	1.74±0.06 *	1.84±0.08 *	1.85±0.07 *
I -IV	2.40±0.06	2.48±0.06	2.51±0.05 *	2.51±0.06 *	2.62±0.09 *	2.64±0.09 *

Values are means±SEM.

"0 min" indicated the time occlusion was induced.

*: Significantly different at the p<0.01 level.

分以後でII a-IV波, I-IV波間潜時に延長を認めた。

R群(n=5)はすべてIV波まで確認できた。典型波形を図4に示し、平均潜時をTable5に示した。対側AICA閉塞直後よりIV波潜時の延長を認め、この延長は60分後まで有意であった。波間潜時ではI-II b波間は延長せず、閉塞6分後よりII b-IV, I-IVで波間潜時の延長を認めた。今回は各波の振幅についての詳細な検討は行わなかったが、L群type3, R群ではAICA閉塞直後に振幅は増大傾向が認められた。

II. 免疫組織学的手法によるVN, CNの細胞障害性の検討

コントロール群は左右のVN, CNの比較においてMAP2の染色性に差は認めなかった。左AICA30分閉塞群で両神経核の細胞や周辺の樹状突起の染色性を比較してみると、VN, CNともに左側の両神経核(perineuronal space)に虚血変化による染色性の低下を観察したがCN領域のほうがVNに比して細胞障害は強いように思われた(Fig.5)。また樹状突起の染色性は同程度に低下しているように思われた。左AICA2時間閉塞群でも左側脳幹に広範な染色低下領域を認めた(Fig.6)。非閉塞側との比較でも細胞質の染色性に差が認められ両神経核ともperineuronal spaceの拡大が見られた。30分閉塞群との比較ではVN, CNともperineuronal spaceの拡大は進行していた。また細胞質の染色性は30分閉塞群と大差ないように思われた。

考 察

I. 脳幹部血流量と脳幹機能との関係

臨床的にある種のみまいや平衡障害, 難聴は脳幹部血流障害により起こることはよく知られその報告も多く認められる^{14),15),16),17)}。しかし半規管, 耳石器, 蝸牛という末梢感覚器官を栄養する前下小脳動脈を含むposterior circulationはその走行や分枝のvariationが極めて豊富であり³⁾, すべての症例で画一的な評価をすることは困難である。基礎実験を行う場合でもこのことは同様で、まず支配血管のvariationが豊富である^{18),19)}ことは常に念頭に置く必要があると思われる。一方脳幹内部のVN, CN領域の毛細血管網はその構築に大差なく⁵⁾, 従って脳幹内部構造についての血流量の変化の検討は比較的容易であると思われた。このような解剖学的事実から、血流変化による脳幹機能変化は脳幹外表面や脳幹穿通直前の血管に閉塞や狭穿などの変化が起こった場合に起こり易いことが想像できる。

Goodhart & Davison²⁰⁾は1936年、蝸牛神経障害を伴わない前下小脳動脈症候群(AICA症候群)を報告し、そ

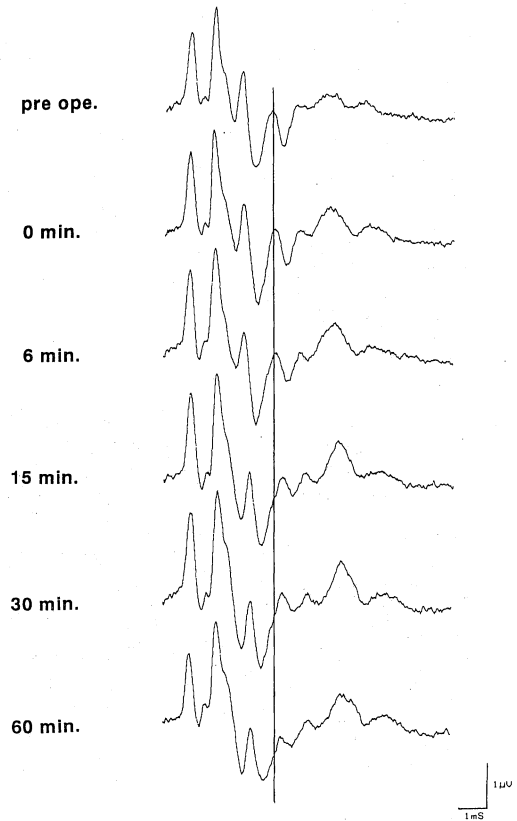


Fig. 4. Typical wave pattern of ABR.
(Occlusion of the contralateral (right) AICA)

の後Adams²¹⁾が難聴を伴うAICA症候群を報告した。めまいを伴うAICA症候群の報告もその後認められている²²⁾。

今回は一側AICA閉塞モデルを作製するために光凝固法を用いた。これはfree radicalにより血管内皮細胞を損傷し、血小板凝集を引き起こすことにより血管閉塞を作製する方法^{11),12)}で、硬膜を破壊することなくAICAに閉塞を作ることができ、術野の狭い場合の血管閉塞作製法としては最適である反面、一過性の虚血病変を作製するには血管の再開通が不確かで適応となりにくい。そこで今回はAICA, VA閉塞時間中は照射を続け閉塞を確実にものとした。AICA閉塞30分後照射を止めた場合、2時間後には約半数例でAICAの再開通が観察された。

脳幹部外表面の血流は一側AICA閉塞により興味ある変動を示した。AICA閉塞によるAICAより尾側の外側回旋枝の血流量の増加は、脳幹部のcollateral circula-

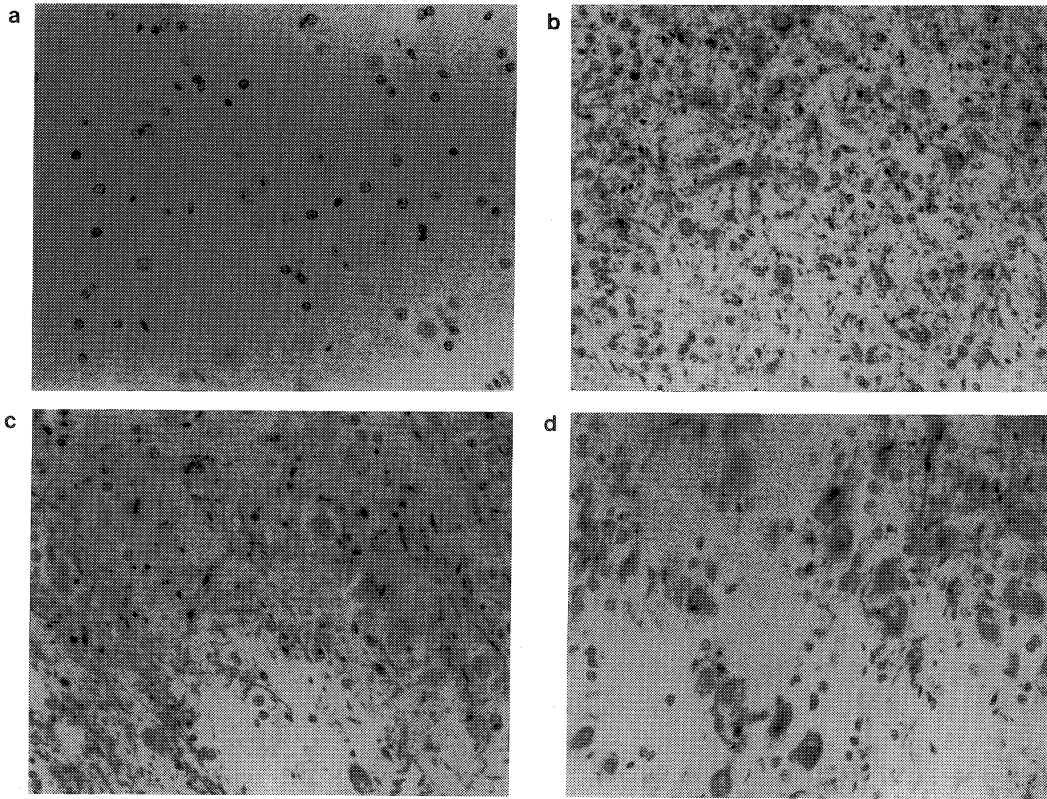


Fig. 5. The immunohistochemical reaction for MAP 2. For the control staining, absorbed normal rabbit serum was used at the primary step of the procedure.

The counter staining with Harris' hematoxylin was used to visualize cell nuclei. The original photographs were taken at $\times 200$ magnification.

- a) control staining
- b) no operated (left cochlear nucleus)
- c) left cochlear nucleus (30 min occlusion of the left AICA)
- d) left cochlear nucleus (2 hours occlusion)

tionの発達によるものであろうと思われ、脳幹内部にはいわゆる borderzone hyperemia が生じているものと考えられた。しかし閉塞 30 分後には autoradiogram で脳幹左側に広範な血流低下部位が存在し collateral circulation からの血流は認められず、虚血領域での血流再分布の準備段階にあったものと思われる。

今回の実験で AICA 閉塞による CN と VN の血流量の低下率に差が認められた (VN : 38 % , CN : 50 % , 対第 I 群左側)。血管走行のみから考察すれば過去に示したように VN は AICA からの小枝と BA から分枝する正中穿通枝、CN は AICA からの小枝のみに栄養されているため、AICA 閉塞によっても VN を栄養する正中穿通枝は保存されている。このことが VN は CN に比して血流低下率が小さい原因であろうと思われる。AICA 閉塞

2 時間後は 30 分後に見られた広範な血流低下領域は存在せず、VN 領域は血流の回復がやや遅れるものの第 I 群の 75 % に回復、CN 領域は第 I 群の level にまで回復した (Fig. 7)。このことからこの実験モデルの場合、一側 AICA 閉塞の際の脳幹部の collateral circulation は CN 領域では少なくとも 2 時間でほぼ完成するものも思われる。しかし脳幹内構造物すべてが一様な回復するのではなく両神経核の間でも血流回復率が異なった。これは collateral circulation の完成に時間差が生じることを意味し、脳幹部の動脈が腹側に集中する事実とあわせ、血管が豊富な脳幹腹外側に存在する CN が脳幹背側に存在する VN より血流回復率が高いことが考えられた。また今回の第 IV 群の結果では、一側 VA 閉塞では脳幹部血流量に変化は認めなかった。この理由としては閉塞後

30分という時間経過により脳幹血流量が均等化したことが考えられ、VA閉塞直後の血流量を示すものではないことを考慮する必要があると思われる。

脳幹部血管の特殊性、血流変化についてはこのような結果を得たがこれらが脳幹機能に及ぼす影響について検

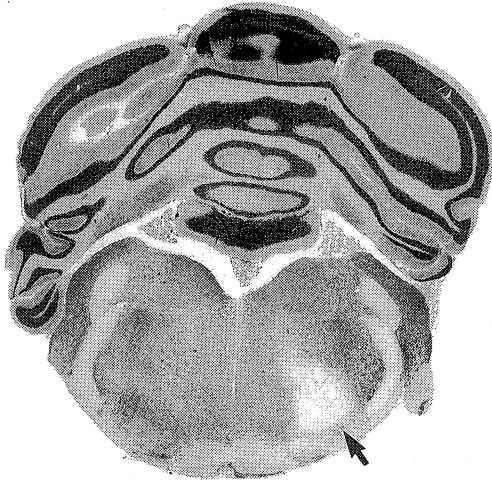


Fig. 6. Ischemic lesion in the brainstem shown with reaction for MAP2 after 2 hours occlusion of the left AICA.
arrow ; ischemic lesion

討する必要がある。そこで神経耳科的検査、他覚的聴力査として臨床的に用いられている温度刺激検査、ABRを用い平衡、聴覚機能検査を行った。温度刺激検査は臨床的には末梢前庭機能の指標となる検査である。文献的にはラットの外側半規管は35-45° horizontal lineから傾斜しているという報告^{24),25)}が見られ今回は40°頸部前屈位で行った。また麻酔からの覚醒についても問題があるが、結果を見る限り非閉塞側術前、術後で眼振持続時間に著変なく充分覚醒した状態であったと思われる。一側AICA閉塞側は非閉塞側と比較して有意な眼振持続時間の短縮がみられ、同側平衡機能低下が存在した。しかしAICA閉塞により完全半規管麻痺(canal paresis: CP)を示す例は一例で、この例は後で述べるABRでのtype 1と同様に末梢への血流がほぼ0になったと考えられ、末梢平衡機能低下による完全CPであると考えられる。しかし他の5例は完全CPには陥らず機能は存在した。血流面からは後下小脳動脈(PICA)からの血流やAICA閉塞部より末梢側でのback flowの存在¹⁸⁾が考えられるが、いずれにしてもこの機能低下は末梢半規管とVNの機能低下の両方を考慮すべきで、臨床的に温度刺激検査は末梢平衡機能検査とされているが、前庭神経核を含む前庭神経障害によるCPの出現にも注意すべきであると思われる²²⁾。

次にABRによる脳幹機能の評価を行った。ABRは

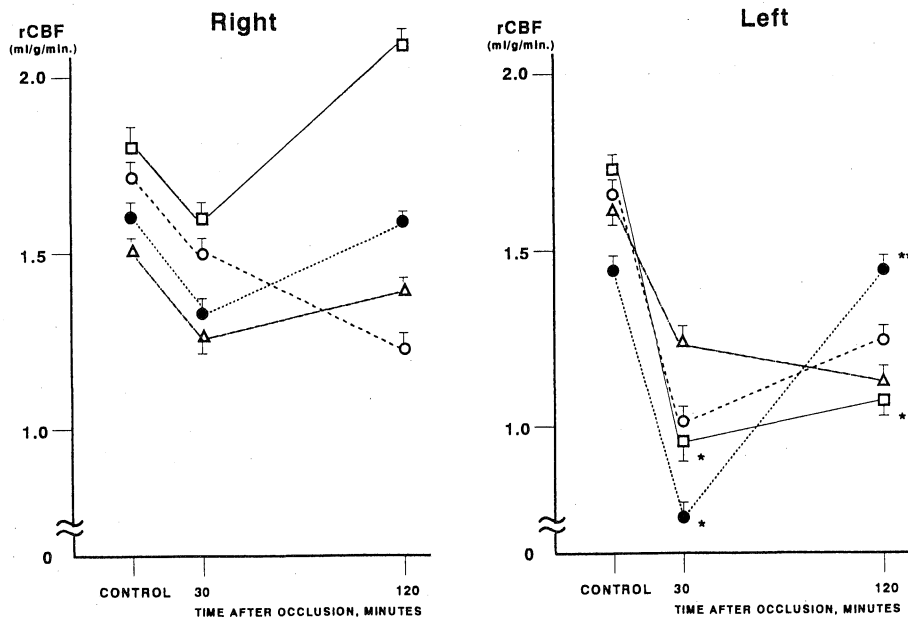


Fig. 7. Regional brainstem blood flow (ml/g/min) changes after occlusion of the left AICA.
△: vermis, □: superior olive, ○: vestibular nucleus, ●: cochlear nucleus

Jewett²⁶⁾が1970年に報告して以来、脳幹機能検査として用いられている方法であり、AICA閉塞時のABR変化についての報告⁷⁾や、虚血によるABR変化の報告²⁷⁾もみられるが、AICA閉塞時にABRを用いて脳幹機能を評価した報告はみられない。AICA閉塞側からの刺激によるABR(L群)はすべてが同様の変化をみせるのではなく、今回は3種類に分類できた。ラットをはじめ実験動物のABR波形はI波からIV波までの評価が述べられることが多く²⁸⁾それに従った。またII波についてもII a, II bの2成分に分かれることは事実であるが、それぞれの起源についてはII aがCNの腹側核でII bが背側核とする報告²⁹⁾、II aが蝸牛神経中枢端の無髄繊維であるという報告^{30),31)}などがあり意見の一致をみていない。しかしII bはII aより潜時が長く、これらがCN由来の電位であることは事実であるので今回はII bをより中枢側からの電位とした。ABRの測定には動物の体温、麻酔深度の管理が反応に影響を及ぼすことはよく知られている^{32),33)}。今回は過去の報告でABRの反応に影響を及ぼさないとされる体温、麻酔深度で検討を行った。type 1, 2はいずれもI波の消失がみられ末梢蝸牛機能障害を示した。しかしtype 2のように一度消失したI~IV波が経過とともに改善するtypeがあり、collateral circulationの発達によりABRが改善したものと思われる。またtype 3については各波間潜時を測定した。AICA閉塞2分後にはすべての波の潜時の延長が認められたが、60分後まで有意な潜時延長を認めたのはIV波のみであった。波間潜時でも閉塞30分以後のI~IV波の潜時の延長はI~II a波間潜時よりもII a-IV波の延長によるものであると思われ、このことからAICA閉塞により末梢蝸牛血流が保存されている場合(ABR I波が保存される場合)は、CNから中枢の機能異常の評価が可能であり、この場合にはABR測定で脳幹機能低下が見られた^{18),19)}。またこのtypeの測定結果から末梢蝸牛と脳幹の虚血に対する易受傷性について考えた場合、閉塞6分後までは有意な延長を示したI波潜時は15分後には有意な延長を示さなかったのに対し、IV波は60分後にも有意な潜時の延長を認めた。このことより一側AICA閉塞による虚血に対する易受傷性は末梢蝸牛に比して脳幹部のほうが強いことが示唆された。虚血に対する末梢蝸牛の影響を除外するために行ったL群では、AICA閉塞直後にはIII, IV波が、6分後からはIV波の潜時の延長が認められた。波間潜時でもI~IV波間の潜時の延長はII b-IV波によるものであった。脳幹部での中枢聴覚路は一側CNから両側上オリブ核に投射され、大脳聴覚野に至る。従って音刺激側と対側のAICA閉塞によっても同側脳幹機能障害

が出現しこのような結果になったものと思われる。今回はAICA閉塞1時間後までの結果を示したがこれらの潜時の延長は2時間後も同様であった。前述の血流測定の結果とあわせて考えた場合、AICA閉塞後血流は回復するにもかかわらず少なくとも2時間は聴覚機能は低下したままである。後に考察するMAP2染色によっても組織学的にCN領域の細胞障害が証明することができた。Lassenは1966年にluxury-perfusion syndromeを報告し、大脳において脳血流と機能の不均衡を指摘した³⁴⁾。脳幹部にもこのconceptが適応できる可能性が示唆された。今回は振幅の変化については詳細な検討は行わなかったが、AICA閉塞直後に特にII波振幅の増大をみたことは興味ある事実であった。

II. 免疫組織学的手法によるVN, CNの細胞障害性の検討

MAP2は神経細胞の細胞質や樹状突起に存在し後シナプス性に染色され、その機序としては定説は明かでないものの組織の虚血変化によりカルシウムイオンが細胞内に流入し、プロテアーゼにより分解されるために染色性の低下が起こると考えられている^{35),36),37)}。今回の結果より一側AICA閉塞によりVN, CN領域はもちろん脳幹部に広範な細胞障害が起こることが観察された。両神経核を比較するとCN領域のほうが細胞障害性は強く、我々が過去に報告したVNはAICA, BAからの穿通枝、CNはAICAのみの小枝により栄養されているという解剖学的な血管走行の違いが、AICA閉塞時の血流量の差を引き起こしMAP2染色の差となって現れたものであると思われた³⁴⁾。一方樹状突起の障害はVNでも強く認められた。前庭小脳反射系、前庭眼反射系、前庭脊髄反射系などの伝導路が関与するVNにとって、樹状突起の障害が強く認められたことは神経細胞からの伝導路障害をおこし、これにより平衡感覚系が障害されることが示唆された。

以上のように一側AICA閉塞により脳幹部や聴覚、平衡機能は上述したような障害を受けることを確認した。また脳幹部の血流回復と脳幹機能の回復に不均衡が存在することを組織学的検討によっても証明した。このことは臨床的に存在するVBIやAICA syndromeの病因を考える一助となると思われた。末梢蝸牛、前庭器官がAICAのみの栄養を受けるのではなくcollateral circulationが強く作動する場合は、末梢器官は保存され脳幹機能障害がclose-upしてくる。このように脳幹部の血流障害を考える場合、画一的な考察は危険であると思われた。

結 語

一側前下小脳動脈(AICA)閉塞ラットを用いて、脳幹部血流測定(主として前庭神経核(VN), 蝸牛神経核(CN))を autoradiography 法と laser-doppler 法にて、脳幹機能を温度刺激検査, auditory brainstem response (ABR)によって評価し、さらに免疫組織学的評価により脳幹虚血時のVN, CNの虚血変化から次の結果を得た。

1. 一側 AICA 閉塞により 30 分後 38% 低下した前庭神経核(VN)血流量は 2 時間後 75% までしか回復しなかった(対正常群閉塞側)。一方蝸牛神経核(CN)は 50% の低下が正常レベルまでに回復した。Laser-doppler 法による一側 AICA 閉塞時の脳幹部血管の血流量の観察でも、閉塞を作製した AICA より尾側の外側回旋枝の血流量の増加が認められ、collateral circulation の発達を観察された。

2. 一側 AICA 閉塞時の脳幹機能変化は、温度刺激検査では閉塞側の平衡機能低下が認められた。ABR では閉塞側の聴力機能低下が認められた。ABR では閉塞側からの刺激では 3 種類に分類できた。AICA 閉塞によっても末梢蝸牛が影響を受けない場合は脳幹機能の評価が可能で、機能低下が認められた。AICA 非閉塞側からの刺激でも脳幹機能の低下が認められたが障害の程度は軽かった。

3. Microtubule-associated protein 2(MAP 2)による免疫組織学的検討では、一側 AICA 閉塞により脳幹部 AICA 閉塞側は広範な組織障害を起し、脳幹部血流が回復する 2 時間閉塞後も組織障害は強く残存した。また VN 領域に比して CN 領域は細胞障害は強いものの、樹状突起の障害は CN と同程度に VN 領域にも認められ、AICA 閉塞による平衡・聴力障害の出現が証明された。

4. 一側 AICA 障害により VN, CN に血流障害がおこり脳幹には虚血による機能異常がみられたが、血管走行の variation により両神経核の易受傷性は異なり脳幹機能の画一的な評価は困難であると思われた。

稿を終えるにあたり、御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました松永 喬耳鼻咽喉科学教室教授に深謝を捧げるとともに、御助言、御校閲を賜った第 2 解剖学教室山本浩司教授、第 2 外科学教室榊 壽右教授に深謝いたします。また本研究を御援助くださった耳鼻咽喉科学教室員各位に感謝の意を表します。

本論文の要旨は第 52, 53 回日本平衡神経科学会(1993

年 11 月横浜市, 1994 年 11 月松江市), The XV th World Congress of Otorhinolaryngology Head & Neck Surgery (1993 年 6 月, Istanbul), The 18th Barany Society Meeting (1994 年 6 月, Uppsala)において発表した。

文 献

- 1) 吉岡達生：耳鼻臨床 79：963-977, 1986.
- 2) 大道卓也：日耳鼻. 90：1772-1780, 1987.
- 3) 乾 洋史, 菊岡政久, 藤田信哉, 吉井 致：日耳鼻. 95：1206-1215, 1992.
- 4) 乾 洋史, 菊岡政久, 藤田信哉, 吉井 致, 松永 喬：Equilibrium Res. Suppl. 8：86-89, 1992.
- 5) 乾 洋史, 菊岡政久, 藤田信哉, 松永 喬, 吉井 致：Equilibrium Res. Suppl. 9：162-168, 1993.
- 6) Konishi, T., Butler, R. A. and Fernandez, C. : J. Acoust. Soc. Am. 33：349-356, 1961.
- 7) 姜 学鈞・伊藤久子：日耳鼻. 94：1811-1815, 1991.
- 8) Ito, H. : ORL 53：265-269, 1991.
- 9) Inui, H., Miyahara, H., Nario, K. and Matsunaga, T. : Eur. Arch. Otorhinolaryngol. 251：233-237, 1994.
- 10) Inui, H., Murai, T., Okamoto, H. and Matsunaga, T. : Acta Otolaryngol. (Stockh) (in press)
- 11) Watson, B. D., Dietrich, W. D., Busto, R., Wachtel, M. S. and Ginsberg, M. D. : Ann. Neurol. 17：497-504, 1985.
- 12) Sakurada, O., Kennedy, C., Jehle, J., Brown, J. D., Carbinin, G. L. and Sokoloff, L. : Am. J. Physiol. 234：59-66, 1978.
- 13) Palkovits, M. and Brownstein, M. J. : Maps and guide to microdissection of the rat brain. 1st. ed., Elsevier, New York, p94, 136, 149, 174, 186, 1988.
- 14) Oas, J. G. and Baloh, R. W. : Neurology 42：2274-2279, 1992.
- 15) Rubenstein, R. L., Norman, D. M., Schindler, R. A. and Kaseff, L. : Laryngoscope 90：505-514, 1980.
- 16) Grad, A. and Baloh, R. W. : Arch. Neurol. 46：281-284, 1989.
- 17) 松永 喬：耳鼻臨床 85：1531-1541, 1992.
- 18) Randolph, H. B., Haupt, H. and Scheibe, F. : Eur. Arch. Otorhinolaryngol. 247：226-228, 1990.

- 19) **Seidman, M. D.** and **Quirk, W. S.** : Eur. Arch. Otorhinolaryngol. **249** : 332-335, 1992.
- 20) **Goodhart, S. P.** and **Davison, C. H.** : Arch. Neurol. Psychiat. **35** : 501-524, 1936.
- 21) **Adams, R. D.** : Arch. Neurol. Psychiat. **49** : 765-770, 1943.
- 22) 中山明峰・稻福 繁・堀 瑞代・瀧本 勲 : 耳鼻臨床 **82** : 1693-1700, 1989.
- 23) **Umemura, K., Kohno, Y., Matsuno, H.** and **Nakashima, M.** : Eur. Arch. Otorhinolaryngol. **248** : 105-108, 1990.
- 24) **Blanks, R. H. I.** and **Torigoe, Y.** : Brain Res. **487** : 278-287, 1989.
- 25) **Hess, B. J. M.** and **Dieringer, N.** : J. Neurophysiol. **66** : 1805-1818, 1991.
- 26) **Jewett, D. L., Romono, M. N.** and **Williston, J. S.** : Science **167** : 1515-1518, 1970.
- 27) **Fuse, T.** : Acta Otolaryngol. (Stockh) **111** : 485-490, 1991.
- 28) **Shiple, C., Buchwald, J. S., Norman, R.** and **Guthrie, D.** : Brain Res. **182** : 313-326, 1980.
- 29) 増井裕嗣 : 日耳鼻. **90** : 1363-1373, 1987.
- 30) **Achor, L. J.** and **Starr, A.** : Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. **48** : 154-173, 1980.
- 31) **Achor, L. J.** and **Starr, A.** : Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. **48** : 174-190, 1980.
- 32) **Katbamna, B., Bankaitis, A. E., Mets, D. A.** and **Fisher, L. E.** : Audiology **32** : 344-355, 1993.
- 33) **Bobbin, R. P., May, J. G., Randall, L.** and **Lemoine, M. S.** : Arch. Otolaryngol. **105** : 467-470, 1979.
- 34) **Lassen, N. A.** : Lancet II : 1113-1115, 1966.
- 35) **Caceres, A., Binder, L. I., Payne, R., Bender, P., Rebhun, L.** and **Steward, O.** : J. Neurosci. **4** : 394-410, 1984.
- 36) **Niinobe, M., Maeda, N., Ino, H.** and **Mikoshiba, K.** : J. Neurochem. **51**: 1132-1139, 1988.
- 37) **Kitagawa, K., Matsumoto, M., Niinobe, M., Mikoshiba, K., Hata, R., Ueda, H., Handa, N., Fukunaga, R., Isaka, Y., Kimura, K.** and **Kamada, T.** : Neuroscience **31** : 401-411, 1989.