

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20057

研究課題名(和文) 脊髄虚血における脊髄前角グルタミン酸濃度の測定 - 脊髄虚血機序の解明

研究課題名(英文) Spinal cord ischemia-reperfusion injury: a microdialysis study in the spinal ventral horn

研究代表者

末廣 浩一 (SUEHIRO, Koichi)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：10735806

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：脊髄前角にてマイクロダイアライシスを行い、脊髄虚血後に脊髄前角のグルタミン酸濃度が直ちに上昇することを明らかにした。同時に下肢の運動誘発電位を測定し、脊髄虚血により運動誘発電位が抑制されることを確認した。上肢、下肢を駆血することによるremote ischemic preconditioning (RIPC)を行うと、脊髄前角でのグルタミン酸濃度の上昇、運動誘発電位の低下が有意に抑制され、RIPCが脊髄虚血予防に有用である事を発見した。またこの脊髄虚血予防効果がNMDA受容体拮抗薬投与により有意に抑制される事から、RIPCの脊髄保護効果にNMDA受容体が関与する事を発見した。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to investigate the protective effect of remote ischemic preconditioning (RIPC) against spinal cord ischemia (SCI) and reveal its mechanism by measuring the glutamate concentration using an in vivo microdialysis in the ventral horn of the spinal cord. RIPC by limb-ischemia attenuated the increase of glutamate concentration in the ventral horn and the decrease of motor evoked potential (MEP) amplitude due to SCI, and improved the post-SCI motor function and histopathologic changes in the spinal cord. Additionally, even with RIPC conditions, pre-administration of NMDA receptor antagonist (MK-801) led to increase the glutamate concentration and decrease MEP amplitude, and also worsened neurologic and histopathologic outcomes. Our study revealed that RIPC could show a protective effect against SCI both in early and late phases, and that the NMDA receptor played an important role for this preventive effect.

研究分野：麻酔

キーワード：脊髄虚血 プレコンディショニング

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 世界的にもまれな本邦の急速な高齢化により、糖尿病や高脂血症、高血圧などの患者が急増している。これに伴い、これらを危険因子とする動脈硬化による心疾患や脳血管疾患に代表される血管病が増加し、がんに次いで日本人の死因の2位になっている。動脈硬化病変に合併することが多い動脈瘤の罹患率も増加しており、動脈瘤全体の25%を占める胸部大動脈瘤も急増している。左鎖骨下動脈より遠位に発生した胸部下行大動脈瘤・胸腹部大動脈瘤は外科的手術もしくはステントを用いた血管内治療が施行されるが、いずれの場合も脊髄保護が重要となる。

(2) 脊髄への血流は、肋間あるいは腰動脈から分岐する前根動脈が重要であるとされている。前根動脈は頸部で2本、胸部で3本、腰部で2本程度あるとされており、いずれも前脊髄動脈に流入する。前根動脈の中でも、下部胸椎あるいは上部腰椎の高さにある前根動脈は大前根動脈 (Adamkiewicz 動脈) と呼ばれ、脊髄の血流維持に最も重要な動脈であり、途絶すると対麻痺を生じることがあるとされている。大前根動脈の起始や走行は個人差が大きく、明らかにするためには個々の症例に動脈造影検査を行う必要がある。加えて、肋間あるいは腰動脈は多くの側副血行路からの血流を受けていることや、肋間あるいは腰動脈同士も内胸動脈などを通じて吻合していることから、脊髄の血流支配は多様な側副血行路を有する複雑な経路によって成り立っているといえる。胸部大動脈手術では、大前根動脈を分枝する肋間あるいは腰動脈の血流低下による脊髄虚血から術後に対麻痺を生じる危険性があり、その頻度は胸腹部大動脈瘤手術で5~15%程度、胸部下行大動脈手術では5%程度とされている。対麻痺は術後の患者の生活の質 (Quality of life) を著しく低下させるだけでなく、その後の治療・介護などに貴重な医療費などを投じるこ

ととなる。

(3) 胸腹部大動脈手術で、対麻痺発生率を低下させるための対策として、大動脈遠位の体外循環による灌流や脳脊髄液ドレナージ、硬膜外冷却法、肋間動脈再建、低体温循環停止法、術前脊髄動脈造影、周術期血圧管理、脊髄モニタリングなどが考案されてきた。脊髄の血流支配が複雑であるために、単一の方法のみで対麻痺を予防することは困難であり、術後対麻痺を回避するためには、いくつもの対策を組み合わせることで使用すること (multimodal approach) が近年の主流になってきている。

## 2. 研究の目的

胸腹部動脈瘤術後患者において、術後神経障害を合併した症例群では合併しなかった症例群と比較して、髄液中のグルタミン酸濃度が有意に高値であったことが報告されている。また薬物投与、脊髄ドレナージを行うことでグルタミン酸上昇が抑制できたとされている。脊髄虚血に関して、モデルラットなどを用いて様々な動物実験が行われているが、脊髄虚血モデルラットにおいても髄液中のグルタミン酸濃度が上昇し、対麻痺症状と髄液中グルタミン酸上昇に有意な関連性があり、また薬物投与を行うことで髄液中グルタミン酸上昇が有意に抑制できたと報告されている。しかしながら、これらの研究におけるグルタミン酸濃度計測は髄液中の濃度変化を計測するという間接的なものにすぎない。本研究では、周術期脊髄虚血の原因とされる脊髄前角でのマイクロダイアライシス法により、連続的にグルタミン酸濃度の測定を行う。マイクロダイアライシス法による直接的なグルタミン酸濃度測定は、脊髄障害の経時的な変化をより正確にとらえることができ、脊髄障害予防効果の機序解明に寄与することが期待される。また本研究では上肢、

下肢を駆血することによる remote ischemic preconditioning (RIPC)による脊髄虚血予防効果について検討を行う。

### 3. 研究の方法

(1) 脊髄マイクロダイアライシス法と下肢運動誘発電位による脊髄虚血評価

10 13 週齢、体重 390 550g のラットにウレタン 1.5g/kg を腹腔内投与することで全身麻酔導入を行った。右内頸動静脈、左大腿動脈にカテーテルを挿入後、気切チューブの挿入を行った。ラットを以下の 5 群に分類 (n=6) し、それぞれ前処置を行った。

Sham 群

脊髄虚血群 (no RIPC / 生食)

RIPC 群 (RIPC / 生食)

MK-801 群 (RIPC / MK-801)

no RIPC 群 (no RIPC / MK-801)

RIPC は右前後肢の 5 分虚血 + 5 分灌流を 4 セット施行した。また、群では、NMDA 受容体拮抗薬である MK-801 の前投与を行った。脊髄虚血は左開胸し、直視下に下行大動脈を 12 分間遮断することによって行った。遮断中は内頸動脈の平均動脈圧を 40mmHg に維持するように、適宜瀉血を行った。脊髄虚血導入後、脊髄マイクロダイアライシスによるグルタミン酸濃度、下肢の運動誘発電位 (MEP) 振幅を測定した。脊髄マイクロダイアライシスは第 10 胸椎レベルの脊髄前角にプローブ留置を行った。MEP は Bregma から 4mm 外側、5mm 尾側に刺激電極を留置し、左下肢に測定電極を留置した。いずれも脊髄虚血開始前に基礎値を測定し、虚血開始後 130 分間の変化を測定した。

(2) 下肢運動機能評価と組織学的評価

上記 (1) と同様の手順で脊髄虚血モデルを作成し、脊髄虚血 48 時間後の下肢運動機能評価、組織学的評価を行った。Motor Deficit

Index (MDI)を用いて下肢運動機能の評価した。運動機能評価後、第 10 胸椎レベルで脊髄を取り出し 10%ホルマリン液で固定した。パラフィンブロックを作成し、Nissl 染色と HE 染色を行い、灰白質の正常神経細胞数を観察した。

### 4. 研究成果

(1) 脊髄マイクロダイアライシス

脊髄虚血群でグルタミン酸濃度の有意な上昇がみられたが、RIPC 群ではこの上昇は有意に抑制された。RIPC 施行前に MK-801 を投与した群では、RIPC 群と比較して有意なグルタミン酸濃度の上昇がみられ、MK-801 の前投与により RIPC の脊髄虚血予防効果は消失した。

(2) 下肢運動誘発電位

脊髄虚血群では有意な MEP 振幅の低下がみられたが、RIPC により、この変化は有意に抑制された。RIPC 施行前に MK-801 を投与した群では、RIPC 群と比較して有意な MEP 振幅の低下がみられ、MK-801 の前投与により RIPC の脊髄虚血予防効果は消失した。

(3) 下肢運動機能

脊髄虚血群では有意な下肢運動機能障害がみられたが、RIPC を行うことにより、有意に下肢運動機能の改善がみられた。一方、MK-801 投与群では、RIPC 群と比べて有意な下肢運動機能の悪化がみられた。

(4) 正常神経細胞数

脊髄虚血群では正常神経細胞数の有意な減少がみられた。RIPC 群では脊髄虚血群と比較して、正常神経細胞数の有意な増加が認められた。MK-801 投与群では、RIPC 群と比較して正常神経細胞数が有意に減少していた。これらの結果により RIPC の脊髄虚血予防効果が判明した。この効果が NMDA 受容体拮抗薬の前投与により有意に抑制されたことから、機序として NMDA 受容体の関与が示唆さ

れた。

5 . 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計1件)

1. 向 陽、末廣 浩一、日野 秀樹、辻川 翔吾、舟井 優介、山田 徳洪：脊髄虚血に対する Remote Ischemic Preconditioning の有効性 - 脊髄マイクロダイアライシスによる検討 - 第 22 回日本心臓血管麻酔学会学術集会 栃木 2017 年 9 月 17 日

6 . 研究組織

(1)研究代表者

末廣 浩一 (SUEHIRO, Koichi)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：10735806