

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2008

課題番号：18591687

研究課題名 (和文) 虚血性脳傷害における Rho キナーゼ阻害薬の効果および他薬との併用効果

研究課題名 (英文) Neuroprotective effects of Rho-kinase inhibitor, alpha 2-agonist, and their combination after transient forebrain ischemia in rats.

研究代表者

西川 俊昭 (NISHIKAWA TOSHIAKI)

秋田大学・医学部・教授

研究者番号：50156048

研究成果の概要：Rho キナーゼ阻害薬が脳虚血後の組織傷害を軽減する可能性が示唆されている。一方、 $\alpha 2$  アゴニストであるデクスメデトミジンも脳保護効果を有すると報告されている。本研究ではラット一過性前脳虚血モデルを用い、Rho キナーゼ阻害薬（ファスジル）の脳保護効果およびファスジルとデクスメデトミジンの併用効果を検討した。ファスジル 10 mg/kg の虚血前投与は脳保護効果を示したが、デクスメデトミジンの併用によってファスジルの脳保護効果が減弱する可能性が示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,700,000	0	1,700,000
2007年度	900,000	270,000	1,170,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	540,000	4,040,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：虚血性脳傷害、Rho キナーゼ阻害薬、ファスジル、デクスメデトミジン

## 1. 研究開始当初の背景

脳虚血後、虚血周辺部ではマイクログリア、周辺部から梗塞巣にかけてはマクロファ-

ジの活性化が生じ、組織傷害性サイトカインが放出される。この一連の反応に Rho キナーゼを介した経路が関わり、病態を増悪してい

る可能性が示唆されている。Rho キナーゼ阻害薬は、これらマイクログリア、マクロファージ、顆粒球などの機能、さらにフリーラジカルストレスの増強効果を抑制し、脳組織に対して保護的に働くと推測され、また神経損傷後の再生を促進することが報告されている。一方、 $\alpha 2$  アゴニストも脳保護効果を有すると報告されている。しかし、これら脳保護効果を示すとされる薬物の単独投与では、必ずしも十分な効果は認められていない。

## 2. 研究の目的

本研究ではラット一過性前脳虚血モデルを用い、Rho キナーゼ阻害薬（ファスジル）の脳保護効果を、神経学的ならびに組織学的（死亡細胞と生存細胞の判別、アポトーシスの評価）に検討するのが第一の目的である。次に Rho キナーゼ阻害薬と  $\alpha 2$  アゴニスト（デクスメドミジン）の併用療法による脳保護効果を、同様な手法で検討するのが第二の目的である。

## 3. 研究の方法

### (1) ラット一過性前脳虚血モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬の効果

対象は雄性 SD ラット (300-400 g)。対照群 (C、生食 1 ml/kg)、ファスジル 3 mg/kg (F3) 群、ファスジル 10 mg/kg (F10) 群、およびファスジル 30 mg/kg (F30) 群 (各群 n = 10) の 4 群に分け、生食または薬物を 1 日 2 回、2 日間 (計 4 回) 腹腔内投与した。尾動脈、尾静脈、右頸静脈にカテーテルを留置し、亜酸化窒素・フェンタニル (25  $\mu$  g/kg/h)・パンクロニウムで麻酔維持した。脳血流量を頭頂部の脳表に設置したレーザー血流計にて測定した。側頭筋温を 37.5°C に維

持した。両側頸動脈閉塞と脱血による低血圧 (収縮期血圧 40~50 mmHg) により前脳虚血状態 (平坦脳波) とし、10 分後、両側頸動脈閉塞解除と返血により脳の再灌流を行なった。

虚血 1、2、および 3 日後に神経学的検査 (0~18 点: 正常=18 点、最重症=0 点) を行なった。虚血 3 日後に、脳を灌流固定した。HE 染色し、海馬の虚血性脳傷害の程度を調べた。さらに TUNEL (terminal deoxyribonucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling) 染色を行い、陽性細胞数を比較検討した。

### (2) ラット一過性前脳虚血モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬と $\alpha 2$ アゴニストとの併用効果

対象は雄性 SD ラット (300-400 g)。対照群 (C、生食 1 ml/kg)、ファスジル 10 mg/kg (F) 群、デクスメドミジン 10  $\mu$  g/kg (D) 群、およびファスジル 10 mg/kg+デクスメドミジン 10  $\mu$  g/kg (FD) 群 (各群 n = 10) の 4 群に分け、生食または薬物を 1 日 2 回、2 日間 (計 4 回) 腹腔内投与した。

前年と同様に実験モデルを作成し、前年と同様の神経学的検査、および組織学的検査を行なった。

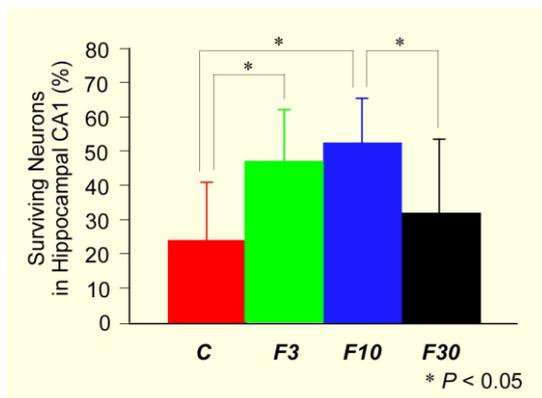
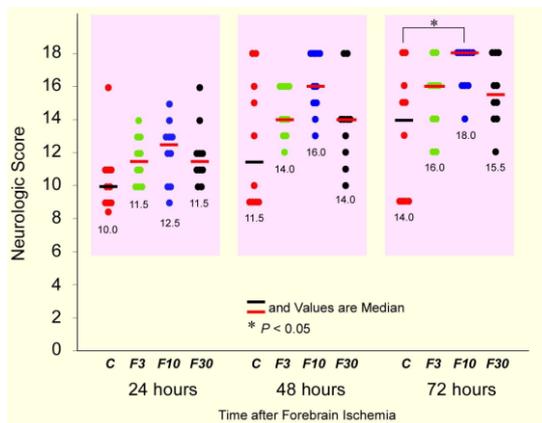
数値は中央値または平均土標準偏差で表した。統計学的処理は、分散分析または Kruskal-Wallis 分析で行い、 $P < 0.05$  を有意差ありとした。

## 4. 研究成果

### (1) ラット一過性前脳虚血モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬の効果

運動機能テストは、虚血 3 日後で C 群より F10 群が有意に高値であった (C 群: 14 点、F3 群: 16 点、F10 群: 18 点、F30 群: 15.5

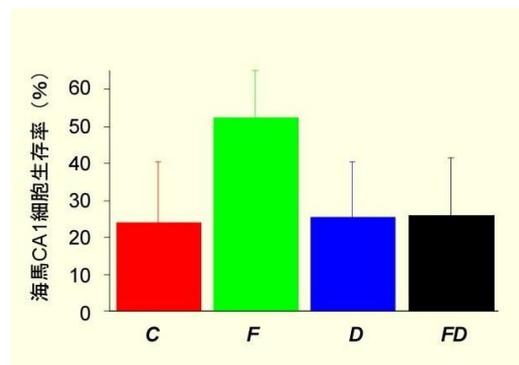
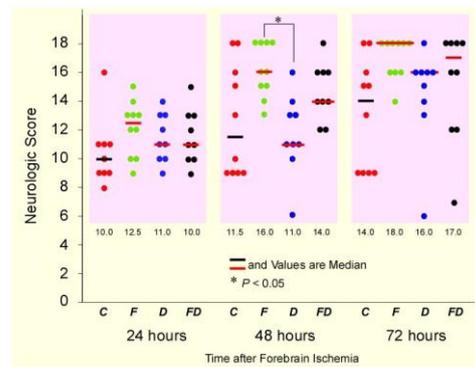
点)。海馬 CA1 細胞の生存率は、C 群と比べ F3、F10 群で有意に高かった (C 群:  $26 \pm 16\%$ 、F3 群:  $43 \pm 19\%$ 、F10 群:  $52 \pm 12\%$ 、F30 群:  $36 \pm 22\%$ )。TUNEL 陽性細胞は C 群と比べ F3、F10 で有意に少なかった (細胞数/mm、C 群:  $40 \pm 39$ 、F3 群:  $5 \pm 15$ 、F10 群:  $1 \pm 4$ 、F30 群:  $24 \pm 38$ )。以上より、ファスジル 10 mg/kg の虚血前投与は神経学的及び組織学的に虚血に対する脳保護効果を有することが示唆された。



## (2) ラット一過性前脳虚血モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬と $\alpha 2$ アゴニストとの併用効果

運動機能テストは、虚血 2 日後に F 群が D 群より有意に高かった (C 群: 11.5 点、F 群: 16 点、D 群: 11 点、FD 群: 14 点) が、1 日後及び 3 日後には各群間に有意差を認めなかった。海馬 CA1 細胞生存率は、F 群が C 群より有意に高かった (C 群:  $24 \pm 17\%$ 、F 群:

$52 \pm 13\%$ 、D 群:  $26 \pm 15\%$ 、FD 群:  $26 \pm 16\%$ ) が、他の群間には有意差を認めなかった。TUNEL 陽性細胞は C 群と比べ F 群で有意に少なかった (細胞数/mm、C 群:  $40 \pm 39$ 、F 群:  $5 \pm 8$ 、D 群:  $34 \pm 32$ 、FD 群:  $11 \pm 17$ )。以上よりファスジルの虚血前投与は、神経学的及び組織学的に脳保護効果を有するが、デクスメトミジンの虚血前投与は有意な脳保護効果を示さず、ファスジルとの併用によりファスジルの脳保護効果を減弱させる可能性が示唆された。



## 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)

[学会発表] (計 4 件)

1. 木村 哲、佐藤浩司、西川俊昭. ラット

一過性前脳虚血モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬（ファスジル）とデクスメデトミジン併用療法の脳保護効果. 第 13 回日本神経麻酔・集中治療研究会、2009/3/28、大阪

2. Toshiaki Nishikawa, Tetsu Kimura, Koji Sato, Yoshitsugu Tobe, Yoko Masaki. Neuroprotective effect of fasudil, a Rho-kinase inhibitor, after transient forebrain ischemia in rats. The 1<sup>st</sup> Congress of Asian Society for Neuroanesthesia and Critical Care, 2008/11/29, Beijing, China
3. 木村 哲、佐藤浩司、戸部善継、真崎容子、西川俊昭. ラット一過性前脳虚血モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬（ファスジル）の脳保護効果. 日本麻酔科学会第 55 回学術集会、2008/6/12、横浜
4. 木村 哲、佐藤浩司、西川俊昭. ラット一過性前脳虚血モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬（ファスジル）の脳保護効果. 第 12 回 日本神経麻酔・集中治療研究会、2008/4/12、新潟

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

西川 俊昭 (NISHIKAWA TOSHIAKI)

秋田大学・医学部・教授

研究者番号：50156048

### (2) 研究分担者

合谷木 徹 (GOYAGI TORU)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：30302277

木村 哲 (KIMURA TETSU)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：00312702

長崎 剛 (NAGASAKI GO)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号：60292380

### (3) 連携研究者