

令和 2 年 5 月 12 日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16435

研究課題名（和文）フリーラジカルスキャベンジャーとマクロライド系抗生物質の併用療法による脳保護効果

研究課題名（英文）Brain protective effect of edaravone-azithromycin combination therapy

研究代表者

水野 香菜（Mizuno, Kana）

秋田大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：10815898

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：ラット一過性脳虚血モデルにおいて、エダラボン・アジスロマイシンの併用療法が単剤治療に比べて脳虚血障害を軽減するかどうか検討した。運動能力などを評価する神経学的検査の結果は、群間に差は認めなかった。脳の死亡細胞数と梗塞面積は、治療群では減少する傾向があったが、併用療法が単剤より優れるという結果は出なかった。

アジスロマイシンは、免疫細胞の局在を制御する事で脳血流再開後の神経細胞死を抑制するとされている。しかし虚血後脳障害修復過程ではエダラボンよりも後に作用するため、今回の様な広範囲虚血では先に働くエダラボンの作用が大きく現れ、アジスロマイシンの加重的な効果は検出しづらくなった可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

麻酔科領域において脳保護が必要となる場面は、心大血管・脳血管手術など一過性広範囲脳虚血である事が多く、高齢患者や併存疾患を持つ患者が増えてくる中、これまでの脳保護だけでは不十分となることもあり、早期に実施可能な新しい脳保護治療が求められている。エダラボン、アジスロマイシンはいずれも脳保護作用が研究で示されており、すでに臨床使用もされているため、その併用で安全かつさらに優れた脳保護効果が得られる事を期待していた。今回評価した短期的な運動機能の予後や死亡細胞数は単剤使用に比べて優れてはいなかったが、さらに詳細な神経機能学的検査や長期予後の評価で優位性を発揮する可能性があると考えている。

研究成果の概要（英文）：We examined whether a edaravone-azithromycin combination therapy reduce brain injury greater than single drug treatment in rats with cerebral ischemia and reperfusion. There was no significant difference between each groups in neurological scores. Percentages of intact neurons in hippocampal CA1 were greater in each drug therapy groups (edaravone, azithromycin, and combination therapy group) than control group, but there was no significant differences between edaravone-azithromycin combination therapy and single drug groups. Similarly, cerebral infarction area was significantly smaller in drug therapy groups, but combination therapy was not superior than single drug therapy.

Azithromycin is thought to affect later than edaravone in ischemia-reperfusion process, that might have made difficult to detect additive effect of azithromycin.

研究分野：麻酔

キーワード：フリーラジカルスキャベンジャー マクロライド エダラボン アジスロマイシン 脳虚血 脳保護 虚血再灌流障害 脳梗塞

1. 研究開始当初の背景

近年、脳梗塞に対して血栓溶解を含む様々な治療が研究されているが、そういった積極的治療の適応は限定的であり、脳保護剤による薬物療法のみが頼みの綱となる症例も多い。また、麻酔科領域においては心血管手術や脳血管手術などで広範な一過性脳虚血となる場面があるが、そういった手術を受ける患者も高齢者や併存疾患を持つ者が増加しており、脳虚血をはじめとする周術期のストレスから脳を守る事は重要な課題になっている。そこで早期に使用可能な脳保護療法として、今回の併用療法を研究のテーマとした。

2. 研究の目的

脳虚血疾患で脳障害を引き起こす要因の一つはフリーラジカルであり、その治療においては脳保護を目的として種々のフリーラジカルスカベンジャーが使用されてきたが、その効果はいずれも十分なものとは言えない。近年では従来の薬剤の他に、異なる作用機序で脳保護効果を示す薬剤が研究されており、マクロライド系抗生物質もその一つとして報告されている。2 剤は脳保護効果の作用機序が異なるため、それらの併用療法により脳保護効果が増強する可能性があると考えられるが、両者の併用療法の保護効果については報告されていない。そこで、ラット一過性前脳虚血モデルを用いて、フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンとマクロライド系抗生物質であるアジスロマイシンの併用療法がそれぞれの単独療法に比して脳保護効果を増強するか否かを、神経学的および組織学的に検討した。

3. 研究の方法

雄性 Sprague-Dawley ラット (300～400 g) を用いて、対照群 (生食)、エダラボン 3 mg/kg 群、アジスロマイシン 150 mg/kg 群、およびエダラボン 3 mg/kg 群 + アジスロマイシン 150 mg/kg 群の 4 群 (各群 8～9 匹) に分けた。

セボフルラン麻酔・調節呼吸下に尾動脈 (血圧測定・採血用)、右大腿静脈 (輸液・薬物投与)、右頸静脈 (脱血用) にカテーテルを留置し、右頭頂部に脳血流測定用プローベを装着、その後右側側頭筋および直腸に体温プローベを挿入する。処置後セボフルラン投与を中止し、70% 亜酸化窒素とフェンタニルの 10 μ g/kg 単回投与および 25 μ g/kg/h の持続投与で麻酔を維持した。薬剤投与 30 分後、脱血によって平均動脈圧を 40mmHg に維持し、右総頸動脈閉塞により右側の前脳虚血状態とした。20 分後、頸動脈閉塞解除と返血によって脳の再灌流を行い、再灌流 60 分後カテーテルを抜去し創を閉じ、ラットを麻酔から覚醒させた。虚血 24 時間、48 時間、72 時間後に神経学的検査を行った。虚血 3 日後には脳を灌流固定し、脳冠状切片にヘマトキシリン染色および TUNEL 染色を行い、光学顕微鏡的に海馬、大脳皮質、および尾状核被殻の生存および死亡細胞数を調べ、虚血脳障害の程度を比較し、さらにプレパラートをデジタルスキャンし、各切片の梗塞面積の測定を行った。

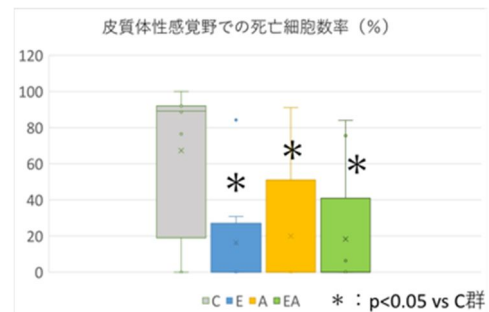
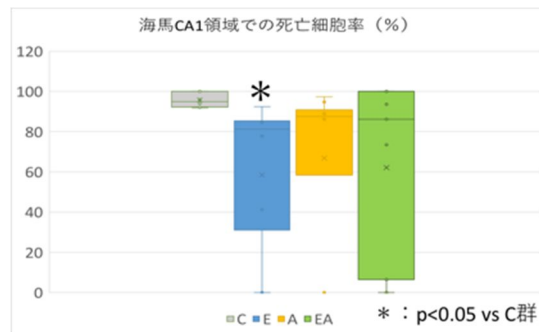
4. 研究成果

(1) 結果

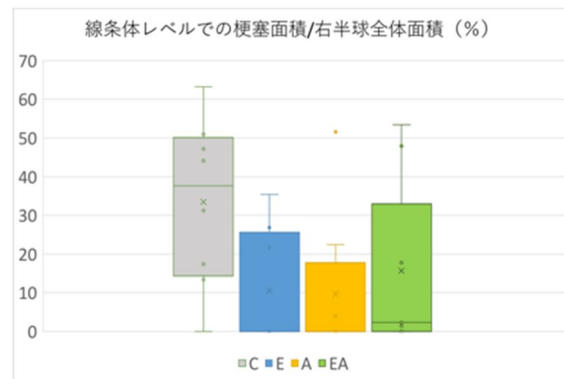
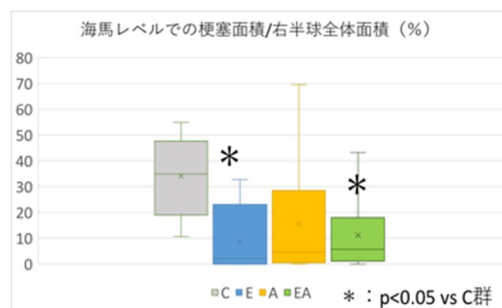
脳血流計で測定した虚血中の血流の減少率は、各群間で有意差がなかった。

神経学的検査の結果は、特に 24 時間後において併用群が優れる傾向があったものの、各群間に有意差は認めなかった。

海馬 CA1 領域、皮質体性感覚野の 400 倍 1 視野で計測した死亡細胞数は、各治療群では減少する傾向があり、特にエダラボンではコントロールと比較していずれも優位に減少していたが、併用療法が各単剤より優れるという結果は出なかった。



海馬レベル、線条体レベルで観察した梗塞面積も同様に、海馬レベルではエダラボン群と併用群でコントロールよりも優位な減少を認めたものの、併用が単剤に優れてはいなかった。



(2) 考察

フリーラジカルスカベンジャーは、虚血後脳障害を軽減することが報告されており、臨床試験でも脳梗塞患者において有意に日常生活動作を改善させることを示した薬剤である。(Cerebrovasc Dis 2003 ; 15 : 222-229、Cerebrovasc Dis 2013 ; 36: 196-204)

また、近年研究されている他の脳保護薬として、マクロライド系抗生物質も虚血後の神経細胞に対して免疫細胞の局在を制御することで、抗炎症、抗アポトーシス、抗酸化作用をもたらし、脳保護効果を示すとされる。(Exp Neurol 2016 , Arch Neurol 2010)

2 剤の併用によって相加的、相乗的な脳保護効果を期待したが、単剤それぞれに脳保護作用は認められたものの、併用が単剤より優れるとは言えなかった。アジスロマイシンは虚血後脳障害修復過程においてはエダラボンよりも後の時点で作用すると考えられるため、今回の様な広範囲虚血では急性期に壊死する虚血コアが大きくペナンプラが相対的に少ないこともあり、先に働くエダラボンの作用が主に現れ、アジスロマイシンの加重的な効果は検出しづらくなった可能性がある。今後、長期予後の検討、異なる虚血モデルの使用などによる研究などで併用の有用性を見いだせる可能性があると考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 水野香菜
2 . 発表標題 フリーラジカスカベジャーとアジスロマイシン併用療法による脳保護効果について
3 . 学会等名 日本麻酔科学会第 6 7 回学術集会
4 . 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究協力者	佐藤 浩司 (Sato Koji)		
研究協力者	中島 麻衣子 (Nakajima Maiko)		
研究協力者	宮原 麻美 (Miyahara Asami)		