

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09351

研究課題名(和文) 治験で脱落したグルタミン酸拮抗薬から、蘇生中に使用可能な薬剤をサルベージする

研究課題名(英文) Therapeutic effects of glutamic acid antagonists on ischemic neuronal damage

研究代表者

武田 吉正 (Takeda, Yoshimasa)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：30294466

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：蘇生後意識障害の原因として脳内グルタミン酸の過剰放出が提唱されている。本研究ではグルタミン酸拮抗薬として硫酸マグネシウムを使用しグルタミン酸放出抑制に及ぼす影響を検証した。マグネシウムイオンはカルシウムよりサイズが大きい2価の陽イオンであるためチャンネルを閉塞しカルシウムの流入を止めると考えられている。雄性SDラットに心停止を負荷し細胞外グルタミン酸濃度の上昇を観察した。心停止20分後には、両群とも細胞外グルタミン酸濃度が400 $\mu\text{mol/L}$ に上昇したが、マグネシウム投与による低下を認めなかった。この結果よりマグネシウムの脳保護効果はグルタミン酸放出抑制を介したのではないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳梗塞に対するグルタミン酸拮抗薬の有効性は数多くの動物実験(脳梗塞モデル)で報告されている。しかし、臨床研究では精神作用(興奮、緊張、幻覚)のため、全て開発が中断され、臨床で使用できる薬剤が存在しない。一方、心停止中に用いる場合、患者は意識消失しており、投薬期間中の精神作用(興奮、緊張、幻覚)は問題とならない。本研究はグルタミン酸拮抗薬(硫酸マグネシウム)の効果を脳内グルタミン酸濃度、を指標に検討することを目的としている。

研究成果の概要(英文)：This study was designed to elucidate the therapeutic effects of glutamic acid antagonists on ischemic neuronal damage during cardiac arrest. Magnesium was intravenously administered as a glutamic acid antagonist, simultaneous with the onset of chest compression. Extracellular glutamate concentration was serially measured using the microdialysis method during the 60 min of the observation period. In this experimental setting, extracellular glutamate concentration was not suppressed by intravenous administration of magnesium.

研究分野：蘇生

キーワード：グルタミン酸

1. 研究開始当初の背景

脳梗塞に対するグルタミン酸拮抗薬の有効性は数多くの動物実験(脳梗塞モデル)で報告されている。しかし、臨床研究では精神作用(興奮、緊張、幻覚)のため、全て開発が中断され、臨床で使用できる薬剤が存在しない。最も条件の良い心停止患者「すなわち心停止の瞬間を目撃され、直ちに119通報とバイスタンダーCPRが行われ、救命士が蘇生を引き継いだ、心原性心停止患者」でさえ、社会復帰率は10%以下である。直ちに胸骨圧迫を行っても十中八九、社会復帰できないのである。社会復帰率の向上が急務であるといえる。



図 1. HPLC (高性能液体クロマトグラフ)

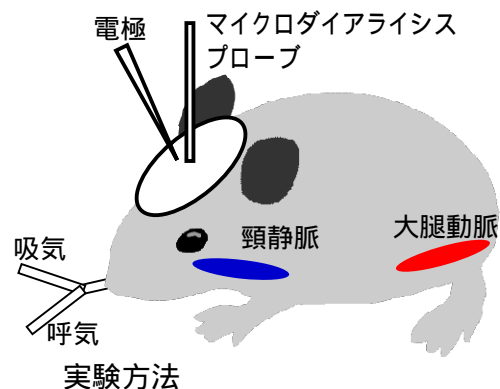
2. 研究の目的

本研究は心停止モデルを用いグルタミン酸拮抗薬の効果を検討することを目的としている。

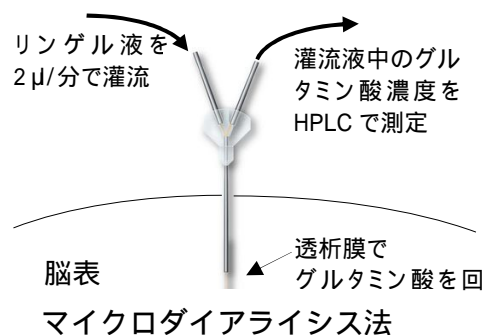
3. 研究の方法

グルタミン酸拮抗薬として硫酸マグネシウムを用いた。虚血時にグルタミン酸が神経細胞から放出され受容体に結合することで多量のカルシウムイオンが神経細胞内に流入する。健康な状態では神経細胞のカルシウムイオンは細胞外の10000分の1以下に抑えられているが、グルタミン酸が結合すると細胞内カルシウム濃度が数百倍に増加し、重要な酵素(リン酸化酵素、蛋白分解酵素等)が無秩序に活性化され、神経細胞が障害されると考えられている。マグネシウムイオンはカルシウム流入経路に結合しカルシウムイオンの流入を阻害することが知られている。本研究では細胞外グルタミン酸濃度を測定するためマイクロダイアライシス法を用いた。マイクロダイアライシス法では直径1mmの透析膜を脳表に刺入し、透析膜内にリンゲル液を2 μ L/分で灌流する。この灌流液注に含まれるグルタミン酸濃度をHPLC(高性能液体クロマトグラフィー図1)で測定した。

ラットの左頭頂部の頭蓋骨を切開し、マイクロダイアライシスプローブ、水素クリアランス白金電極と脳圧センサーを挿入し、細胞外



自動胸骨圧迫装置



グルタミン酸濃度、脳血流を測定した。右大腿動脈にカニューレーションし、動脈圧を測定した。食道から電気刺激で心停止を負荷し、電動胸骨圧迫装置を用いて胸骨圧迫を開始する。胸骨圧迫は300回/分で行った。

心停止後人工呼吸のみ行った群、人工呼吸+胸骨圧迫を行った群、人工呼吸+胸骨圧迫+硫酸マグネシウムを静脈内投与した群に分け、動脈圧、細胞外グルタミン酸濃度を比較した。蘇生時グルタミン酸濃度は蘇生後の神経学的予後や組織学的予後と強い相関が認められ、蘇生時脳障害の指標に用いられている。

4. 研究成果

1年度目は実験系の確認を行った。

胸骨圧迫しなかったラットではグルタミン酸濃度が $272 \pm 119 \mu\text{mol/L}$ に上昇したが、胸骨圧迫したラットでは $183 \pm 53 \mu\text{g/L}$ ($p=0.02$) に抑制された。ラット用胸骨圧迫装置、胸骨圧迫中に施行する脳内マイクロダイヤリシス法、グルタミン酸分析装置、からなる実験系が機能していることが確認された。

2年度目、3年度目でデータを蓄積した。その結果、3群とも(心停止後人工呼吸のみ行った群、人工呼吸+胸骨圧迫を行った群、人工呼吸+胸骨圧迫+硫酸マグネシウムを静脈内投与した群)心停止2分後に膜電位の消失を認め、直後より細胞外グルタミン酸濃度の上昇が観察された。20分後には、全ての実験群で細胞外グルタミン酸濃度が $400 \mu\text{mol/L}$ に上昇したが、群間に差を認めなかった。この結果よりマグネシウムの脳保護効果はグルタミン酸放出抑制を介したのではないことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miki Fushimi, Yoshimasa Takeda, Ryoichi Mizoue, Sachiko Sato, Hirokazu Kawase, Yuji Takasugi, Satoshi Murai, Hiroshi Morimatsu	4. 巻 in press
2. 論文標題 Cardiopulmonary resuscitation may not stop glutamate release in the cerebral cortex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Neurosurg Anesthesiol	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/ANA.0000000000000838	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大倉靖子、武田吉正
2. 発表標題 心停止による全脳虚血モデルラットにおけるMgの脳保護効果の検討
3. 学会等名 蘇生学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大倉靖子、武田吉正
2. 発表標題 心停止による全脳虚血モデルラットにおけるMgの脳保護効果の検討
3. 学会等名 岡山大学課題研究セミナー
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------