

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09756

研究課題名(和文) 周産期脳障害に対するマグネシウムのプレコンディショニング効果に関する基礎的研究

研究課題名(英文) Preconditioning effects of magnesium sulfate on perinatal hypoxic-ischemic brain damage

研究代表者

鮫島 浩 (Sameshima, Hiroshi)

宮崎大学・学長

研究者番号：50274775

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：低酸素虚血に対するマグネシウム(Mg)のプレコンディショニング効果は臨床で示唆されているが、基礎的動物実験で確認されていない。ヒト胎児脳障害モデルである7生日ウイスターラットに8%低酸素虚血負荷を加えて脳障害を作製した。Mgは低酸素負荷24時間前に腹腔内に投与し、90分間の低酸素虚血負荷後、14生日に脳組織検査を行なった。その結果、重度脳障害+死亡の頻度は、Mg低濃度では85%、Mg高濃度では56%であり、2群間に有意差 $p<0.03$ を認めた。以上から低酸素虚血に対するMgのプレコンディショニング効果が実証されたが、前投与時期の詳細な検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分娩前後に起こる脳障害は解決すべき大きな課題である。硫酸マグネシウム(Mg)は、切迫早産や妊娠高血圧症に使用されており、臨床的には児の脳障害を予防する可能性が示されている。妊娠中に一度投与されると、その後の分娩時にMg濃度が正常化していても脳保護作用を示す可能性を我々は臨床的に捉えた。そこで動物実験で実証した結果、少なくとも24時間前、臨床では数週間前までにMgが投与されていれば、その後の分娩時に低酸素虚血負荷があっても脳障害をある程度軽減できることが判明した。Mg前投与の治療時期に関して更なる検討が必要であるが、予防的投与で脳障害が半減する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Magnesium has neuroprotective effects against hypoxic-ischemic brain damage, which is suggested in some large-population clinical studies. Here, we tried to prove it in basic animal models with hopes to see if there is a therapeutic window of the Mg pretreatment and its dose-response impact on brain damage. In 7-day-old, Levine-Rice rat models, Mg was given intraperitoneally 24-hour before 8%, 90-minute hypoxia, which decreased significantly ( $p<0.03$ ) the incidence of severe brain damage or death in high-dose group than in low-dose group. Therapeutic window was at least 24 hours before the severe insult. With our limited evidence, there seemed no apparent dose-response relationship between Mg-dose and beneficial impact on brain damage, but possibly a threshold response.

研究分野：産科学

キーワード：周産期脳障害 低酸素虚血 硫酸マグネシウム プレコンディショニング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

マグネシウム(Mg)は発達期の脳に対して脳保護作用を有する。これまでその効果は主にストレス直前の投与に限って検討されてきた。近年、妊娠中の特定の期間(therapeutic window)に Mg を投与することで、その後の低酸素ストレスに対する preconditioning 効果を示す可能性が臨床的に示されつつある。我々独自の施設共同研究でも同様の結果を得ている。しかしながらその preconditioning 効果の有無、存在するのであれば、用量効果依存性の有無や投与時期の検討など、不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

そこで今回、周産期脳障害モデルであるラット新生仔の Levine-Rice モデルを用い、Mg の脳保護作用の中で preconditioning 作用の有無を検討し、therapeutic window、用量依存性の有無を明らかにする。基礎的、臨床的研究から、周産期脳障害に対するマグネシウム(Mg)の有用性が示されてきた。しかし Mg の pre-conditioning 効果に関する研究は国際的にも認められていない。そこで今回、ヒトの周産期脳障害モデルとして汎用されている新生仔ラット Levine-Rice モデルを用い、妊娠中の母体への Mg 投与が、その後のストレスに対して preconditioning 効果を示すかを検討する。特に、Mg の preconditioning 効果が認められる therapeutic window を特定することを目的とする。

### 3. 研究の方法

ヒトの周産期脳障害モデルとして汎用されている新生仔ラット Levine-Rice モデルを用いる。成熟児の脳発達に相当する 7 生日ラットを用いる。低酸素虚血負荷は 8%酸素濃度環境下に 90 分間おくこととした。これにより、約 8 割のラットに脳障害が発症することが知られている。

低酸素虚血負荷を加える 24 時間前に腹腔内に low-dose,あるいは high-dose の Mg 溶液を投与する。これにより 3~6 時間は高 Mg 血症が得られるが、24 時間後には正常に戻ることが確認されている。実験後 7 日間は飼育を続け、14 生日に脳を摘出し、組織学的に評価する。

脳障害は大脳皮質の 50%以上に神経細胞障害があるものを severe とし、それ以外を normal, mild, moderate として評価した。

### 4. 研究成果

今回、多くのラットで実験中の死亡、生存しても重度の脳細胞壊死 皮質空洞化を招き、Mg の効果判定ができない状況が続いた。研究後半期になり、発達の良好は母獣で、かつ妊娠期間が夏である summer animal に限定して実験したところ、適切なモデルが作製可能であった(脳障害の発症頻度が、mild-severe を含めて 80%前後)。

そこで、low-dose 群 (Mg 投与量が 20mg/kg) と high-dose 群(40~150mg)に分けて検討した。その結果、下表に示すように、high-dose 群で有意に脳障害が軽減し、重症化死亡の頻度が減少した( $p < 0.03$ )。死亡を除いた生存群に限っても同様に、脳障害を有意に軽減した( $p < 0.05$ )。

結果：表 1

	Normal-moderate damage	Severe damage or died
Saline or Low-dose < 20 mg/kg	3 (15%)	17 (85%)
High-dose ≥ 20 mg/dl	21 (42.9%)	28 (57.1%)

また、high-dose 群で用量効果依存性を検討したが、認めなかった。

以上から、Mg 前投与に伴う preconditioning 効果は 24 時間までは認められ、ヒトに換算すると 2~4 週間と推測された。また、用量効果依存性は認められなかった。Therapeutic window をどこまで拡大できるかが重要な課題である。また、早産児への効果に関しても更なる検討を要す



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Seishi Furukawa, Yang Li, Hiroshi Sameshima	4. 巻 47(5)
2. 論文標題 Combination of lipopolysaccharide and hypoxia-ischemia attenuates cholinergic anti-inflammatory effect in newborn rat brains	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology	6. 最初と最後の頁 736-740
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.31083/j.ceog.2020.05.5333	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Muraoka J, Kodama Y, Goto T, Yamashita R, Doi K, Kaneko M, Sameshima H.	4. 巻 9(3)
2. 論文標題 Intrapartum fetal heart rate patterns and perinatal outcome in chorioamnionitis at or beyond 34 weeks of gestation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Obstet Gynecol Res 9(3): 1110-1117, 2021.	6. 最初と最後の頁 1110-1117
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jog.14641.	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 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 鮫島浩
2. 発表標題 マグネシウムの持つ脳保護作用を有効利用するために
3. 学会等名 第55回日本周産期新生児医学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ohashi M, Sameshima H, et al.
2. 発表標題 Optimal timing for magnesium sulfate administration to prevent preterm delivery and a poor neurological outcome.
3. 学会等名 Society for Reproductive Investigation.（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Sameshima H.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 252
3. 書名 Preterm labor and delivery. Editor Sameshima H.	

〔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
---------	---------