

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：24405

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18037

研究課題名（和文）慢性頸髄圧迫モデルラットの脊髄症状進行に対する電子タバコエアロゾルの影響

研究課題名（英文）Effect of e-cigarette aerosol on cervical myelopathy in a rat model of chronic cervical spinal cord compression.

研究代表者

玉井 孝司 (Koji, Tamai)

大阪公立大学・大学院医学研究科・病院講師

研究者番号：30711824

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：慢性頸髄圧迫モデルラットの作成に必要な椎弓下に挿入する吸水膨張性ポリマーが製造中止となり、CSMラットの確立が課題であったが、N社のアクアブレンゴムスライスを購入した。モデル作成の手順はC6椎弓を切除し、アクアブレンゴムスライスにC5椎弓下に挿入する。術後4週程度で頸髄症が発症し、術後8-10週かけて脊髄症が悪化し約66%の確率でCSMラットが完成した。今後、タバコエアロゾル抽出液を投与する群とコントロールとしてPBSを投与する群を作成し、脊髄症の悪化に関して群間比較を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

燃焼式タバコと同様に電子タバコにも特有の化学物質が含まれていることが報告されている、燃焼式タバコの喫煙習慣は脊髄症の悪化を助長すると報告がある。したがって、電子タバコの喫煙習慣においても、頸髄症の悪化の可能性はある。本研究は現時点ではCSMラットの確立に苦慮した。しかしその研究成果は、電子タバコ煙は燃焼式タバコ煙に比して頸髄症進行への影響が弱い結果であれば、燃焼式タバコ喫煙習慣を持つ患者に対して電子タバコへの切り替えを提唱できる。逆に、同等の増悪を示していた場合には、強い禁煙指導や禁煙外来への紹介が必要であると説明できる。そのため社会的意義が高い研究であり、今後も研究を継続する。

研究成果の概要（英文）：The production of water-absorbent expandable polymer was stopped, which was necessary for the creation of the chronic cervical spinal cord compression rat, called a CSM rat. Therefore, the problem was to create CSM rat. We finally obtained water-absorbent expandable polymer (thickness: 0.3 mm to 0.5 mm, width: 5 mm, length: 30 mm), which can allow us to establish the CSM rat. The procedure for creating the model was as follows; the C6 lamina was removed, and the expandable polymer slice was inserted under the C5 lamina. Cervical myelopathy developed about 4 weeks postoperatively, and myelopathy worsened over 8-10 weeks postoperatively, resulting in a 66% probability of completion of CSM rats. In the future, a tobacco aerosol extract group and a control PBS group will be created and compared with the groups about the worsening of myelopathy.

研究分野：脊椎外科

キーワード：電子タバコ 燃焼式タバコ 頸髄症 慢性頸髄圧迫モデル

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

燃烧式タバコの喫煙習慣は頸椎症性脊髄症の増悪を助長すると指摘されている。しかし、その増悪はニコチンの摂取ではなく、タバコの「燃烧」により発生する副産物（一酸化炭素やオキシダントによる酸化ストレス）が強く関与しているとされる。近年、本邦においても電子タバコが広く普及し始めている。電子タバコはタバコ葉を加熱させ吸引するため、燃烧に伴う副産物の摂取を伴わない。

### 2. 研究の目的

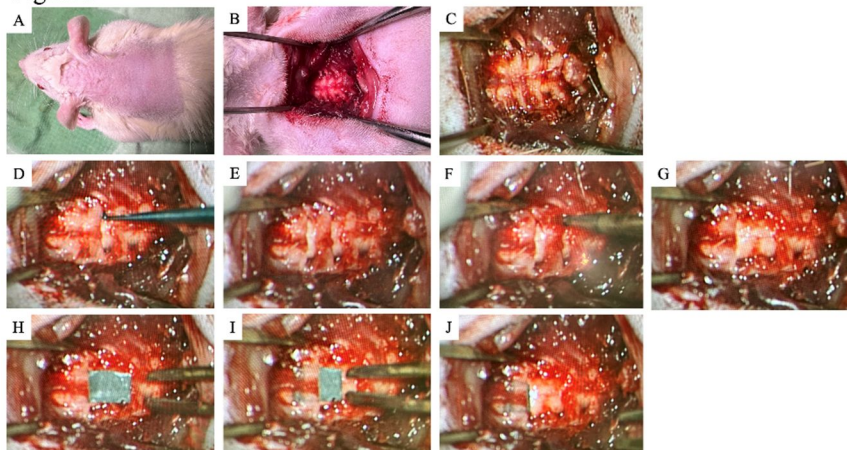
本研究の目的は「電子タバコのエアロゾル吸引は頸椎症性脊髄症の病状進行に影響するか」を基礎的観点から検証することである。慢性頸髄圧迫モデルラットに電子タバコエアロゾル抽出液、燃烧式タバコ煙抽出液、及び生理食塩水を与え、頸髄症の進行程度を評価する。併せて、現在、頸髄症進行予防に有用とされている薬剤が、喫煙下でも有効かを評価する。当研究により、爆発的に普及している電子タバコの、頸椎症性脊髄症に対する影響が明らかとなる。

### 3. 研究の方法

慢性頸髄圧迫モデルラットの作成方法(Figure 1)

8週齢の雄の Sprague-Dawley rat (SD rat)を使用する。頸椎レベルを剃毛する(図 A)。約 4cm 程度皮切を置いた。SD rat は T2 の棘突起が形態的に大きいため、T2 棘突起をメルクマールに C5 レベルまで展開する(図 B)。顕微鏡を導入する(図 C)。鋭匙を使用して、C6 椎弓尾側に付着している黄色靭帯を剥離する(図 D)。同様に C5 椎弓尾側に付着している黄色靭帯を剥離し、C5-6 間、C6-7 間の硬膜を露出させる(図 E)。C6 椎弓を径 0.5mm のダイヤモンドバーを用いて両側に骨溝を作成する(図 F)。マイクロハサミを用いて、C6 椎弓切除を施行する(図 G)。N 社のアクアプレングムスライス(厚み 0.3mm, 幅 5mm, 長さ 30mm)を愛護的に C5 椎弓下に挿入する(図 H-図 J)。洗浄と止血を行い、筋膜、表層を閉層する。

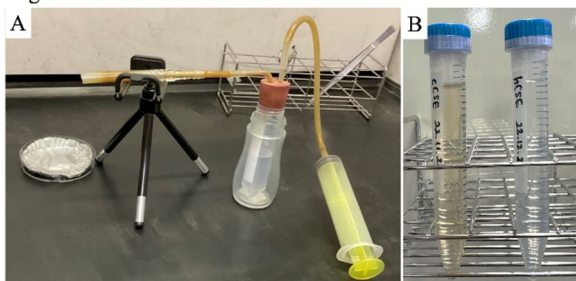
Figure 1



タバコエアロゾル抽出液の作成方法(Figure 2)

本教室ではタバコエアロゾルの抽出液を作成する装置を開発している(図 A)。燃烧式タバコと加熱式タバコをそれぞれ 3 本ずつ使用した。タバコの主流煙を PBS 25ml を通過させ、0.22  $\mu\text{m}$  の濾過フィルターを通して精製し、タバコエアロゾル抽出液を作成した(図 B)。その後、吸光度測定を行い、一定の濃度になっていることを確認している。

Figure 2



慢性頸髄損傷モデルラットの頸髄症のスコ

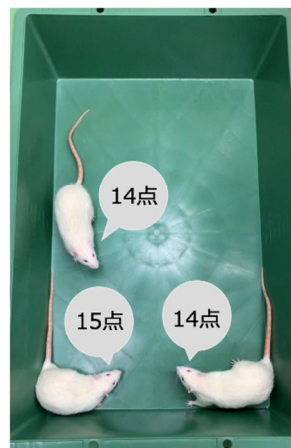
### アリング(Figure 3)

過去の報告と同様に, Basso, Beattie, and Bresnahan Locomotor Rating Scale (BBB score)を使用して,慢性頸髄損傷モデルラットの脊髄症の程度のスコアリングを行った.スコアリングの方法は,慢性頸髄損傷モデルラットをケージ内に入れて3分間動画撮影を行い,後に2名の評価者でBBB scoreをつけた.[1] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection. *Exp Neurol.* 1996 Jun;139(2):244-56.

## Figure 3

TABLE 1  
Basso, Beattie, and Bresnahan Locomotor Rating Scale

0	No observable hindlimb (HL) movement
1	Slight movement of one or two joints, usually the hip and/or knee
2	Extensive movement of one joint or extensive movement of one joint and slight movement of one other joint
3	Extensive movement of two joints
4	Slight movement of all three joints of the HL
5	Slight movement of two joints and extensive movement of the third
6	Extensive movement of two joints and slight movement of the third
7	Extensive movement of all three joints of the HL
8	Sweeping with no weight support or plantar placement of the paw with no weight support
9	Plantar placement of the paw with weight support in stance only (i.e., when stationary) or occasional, frequent, or consistent weight-supported dorsal stepping and no plantar stepping
10	Occasional weight-supported plantar steps; no FL-HL coordination
11	Frequent to consistent weight-supported plantar steps and no FL-HL coordination
12	Frequent to consistent weight-supported plantar steps and occasional FL-HL coordination
13	Frequent to consistent weight-supported plantar steps and frequent FL-HL coordination
14	Consistent weight-supported plantar steps, consistent FL-HL coordination, and predominant paw position during locomotion is rotated (internally or externally) when it makes initial contact with the surface as well as just before it is lifted off at the end of stance; or frequent plantar stepping, consistent FL-HL coordination, and occasional dorsal stepping
15	Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination and no toe clearance or occasional toe clearance during forward limb advancement; predominant paw position is parallel to the body at initial contact
16	Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait and toe clearance occurs frequently during forward limb advancement; predominant paw position is parallel at initial contact and rotated at lift off
17	Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait and toe clearance occurs frequently during forward limb advancement; predominant paw position is parallel at initial contact and lift off
18	Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait and toe clearance occurs consistently during forward limb advancement; predominant paw position is parallel at initial contact and rotated at lift off
19	Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait, toe clearance occurs consistently during forward limb advancement, predominant paw position is parallel at initial contact and lift off, and tail is down part or all of the time
20	Consistent plantar stepping and consistent coordinated gait, consistent toe clearance, predominant paw position is parallel at initial contact and lift off, and trunk instability; tail consistently up
21	Consistent plantar stepping and coordinated gait, consistent toe clearance, predominant paw position is parallel throughout stance, and consistent trunk stability; tail consistently up

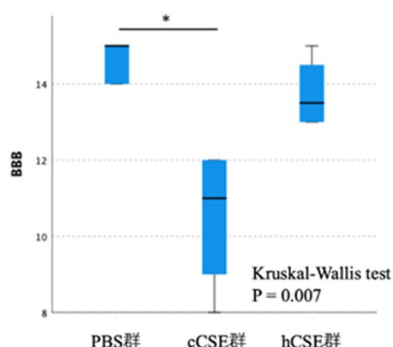


## 4. 研究成果

BBB scoreの結果.(Figure 4)

PBS群7例,cCSE群4例,hCSE群4例での検討を行った.BBBスコアの中央値はPBS群で15点,cCSE群で11点,hCSE群で13.5点であった.Kruskal-Wallis検定を行うと,有意差(p=0.007)を認め,事後検定(Bonferroni訂正)を行うと,PBS群とcCSE群において,有意差(p=0.005)を認めた.一方で,hCSE群とPBS群(p=0.837),hCSE群とcCSE群(p=0.201)には有意差が見られなかった.したがって,燃焼式タバコエアロゾル抽出液の投与は慢性頸髄症の悪化を助長することがわかった.一方で,加熱式タバコエアロゾル抽出液の投与はPBS投与群と比較して頸髄症のスコアには差がなかった.

## Figure 4



以上の結果から,当研究期間内に慢性頸髄圧迫モデルラットの確立を行い,神経症状の悪化に燃焼式タバコ・加熱式タバコ抽出液が及ぼす影響の一端を解明し得た.今後,タバコエアロゾル抽出液を投与する群とコントロールとしてPBSを投与する群を作成し,脊髄症の悪化に関してさらなる詳細な評価を行っていく方針である.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------