

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 24日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591967

研究課題名（和文） 虚血性脳傷害におけるエストロゲンと低体温の併用効果

研究課題名（英文） Neuroprotective effects of combined estrogen and hypothermia after transient forebrain ischemia in rats

研究代表者

長崎 剛 (GO NAGASAKI)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号：60292380

研究成果の概要（和文）：

エストロゲン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、低体温療法は多くの動物モデルで脳虚血後の組織傷害を軽減することが示されている。本研究ではラット一過性前脳虚血モデルを用いて虚血性脳傷害におけるエストロゲン虚血後投与と低体温療法の併用効果を検討した。その結果、虚血28日後においてエストロゲン虚血後投与と低体温療法の併用は、エストロゲン単独または低体温単独と比較して、組織学的な脳保護効果を増強しなかった。

研究成果の概要（英文）：

We examined whether combined treatment with estrogen and hypothermia reduces brain injury after transient forebrain ischemia in rats compared with either treatment alone.

Methods: Male Sprague-Dawley rats were anesthetized with halothane and nitrous oxide in oxygen. Five groups were tested (n=8 each group): group C (vehicle 5 mg/kg, temporal muscle temperature 37.5°C); group E (17β-estradiol 200 μg/kg, 37.5°C); group H (vehicle 5 mg/kg, 35.0°C); group EH (17β-estradiol 200 μg/kg, 35.0°C); and group S (sham surgery, 37.5°C). In the groups H and EH, the temporal muscle temperature was reduced to 35°C immediately after ischemia and maintained for 1 hour. Estrogen or vehicle was administered intravenously immediately after ischemia. Cerebral ischemia was produced by bilateral carotid artery occlusion with hemorrhagic hypotension (mean arterial pressure 40mmHg) for 10 min. Histopathology and neurologic deficit score were evaluated at 28 days after ischemia. Results: 28 days after ischemia, the numbers of intact neurons in the hippocampal CA1 subfield in the groups E (5±3/mm; mean±SD), H (19±24/mm), EH (21±28/mm) were comparable with the group C (5±2/mm). The group S (132±22/mm) showed a significantly increased number of intact neurons compared with other four groups. There were no significant differences in neurologic deficit scores among five groups. Conclusion: A combination of estrogen and hypothermia did not provide greater neuroprotection compared with either treatment alone.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：蘇生学

1. 研究開始当初の背景

- ・虚血性脳傷害の主な病態は、興奮性アミノ酸の細胞外への遊離、一酸化窒素の異常産生、フリーラジカル・peroxynitrite の産生、脳内ノルエピネフリン濃度の上昇、およびカルシウムイオンの細胞内過剰流入等である。
- ・脳虚血が起きると数時間から 24 時間をピークとして好中球が虚血病巣に浸潤する結果、虚血周辺部ではマイクログリアおよび虚血周辺部から梗塞巣に至る部位ではマクロファージの活性化が生じ、組織傷害性炎症性サイトカインが放出される。
- ・エストロゲンはマイクログリアによるサイトカイン産生を抑制し、内皮型一酸化窒素の増加、抗アポトーシス作用を有する bcl-2 の増加を介して脳組織に対して保護的に働く。さらに興奮性アミノ酸遊離を抑制して虚血性傷害を軽減する。エストロゲンの虚血前投与での有効性を示す報告は多いが、虚血後投与の報告は少ない。
- ・低体温は脳代謝の抑制、興奮性アミノ酸の遊離抑制によって虚血性脳傷害を軽減する。しかし、脳保護効果を示す薬物、低体温法の単独では、必ずしも十分な効果は認められていないのが現状である

2. 研究の目的

ラット一過性前脳虚血モデルを用い、虚血性脳傷害におけるエストロゲン虚血後投与と低体温法の併用効果を検討する。

(1)短期的効果の評価するため、虚血 7 日後に組織学的評価、神経学的評価を行う。

(2)長期的効果の評価するため、虚血 28 日

後に組織学的評価、神経学的評価を行う。

3. 研究の方法

雄 SD ラット 80 匹をハロタンで麻酔導入後、気管挿管と人工呼吸を行い、カテーテルを尾動脈、頸静脈に留置し、側頭温を 37.5°C に維持した。ラットを対照群 (側頭温 37.5°C)、エストロゲン群 (17β-エストラジオール 200 μg/kg 投与)、低体温群 (側頭温 35°C)、エストロゲン+低体温群、シャム群の 5 グループとして、それぞれを 7 日観察する群、28 日観察する群の計 10 群とした (各 n=8)。脱血による低血圧 (平均血圧 40mmHg) と両側頸動脈閉塞により前脳虚血状態とし、10 分後に頸動脈閉塞解除と返血により再灌流を行った。エストロゲン投与群では再灌流と同時に 17β-エストラジオールを静脈内に投与し、低体温群では再灌流と同時に 1 時間、側頭温を 35°C に低下させた。虚血再灌流の 7 日後または 28 日後に神経学的評価 (neurologic deficit score) を行い、さらに脳の灌流固定、H-E 染色により、海馬 CA1 領域から 1mm 当りの正常細胞数を計測した。統計解析は分散分析と scheffe テスト、Steel-Dwass テストで行った。

4. 研究成果

(1) 短期的効果について

虚血 7 日後、海馬 CA1 領域における正常細胞数は、対照群 (11±11/mm: 平均±標準偏差)、エストロゲン群 (60±39/mm)、低体温群 (29±32/mm)、エストロゲン+低体温群 (51±27/mm) であった。エストロゲンと低体温の

併用はエストロゲンまたは低体温単独と比較して、正常細胞数を有意に増加させなかった。シャム群 (116±36/mm) では他の4群と比較して海馬 CA1 領域の正常細胞数が有意に多く観察された。神経学的評価において5群間に有意差は認められなかった。

(2) 長期的効果について

虚血 28 日後、海馬 CA1 領域における正常細胞数は、対照群 (5±2/mm: 平均±標準偏差) エストロゲン群 (5±3/mm)、低体温群 (19±24/mm)、エストロゲン+低体温群 (21±28/mm) の比較で有意差は認められなかった。シャム群 (132±22/mm) では他の4群と比較して海馬 CA1 領域の正常細胞数が有意に多く観察された。神経学的評価において5群間に有意差は認められなかった。

したがって、エストロゲン虚血後投与と低体温療法の併用は、エストロゲン単独または低体温単独と比較して、短期的にも長期的にも組織学的な脳保護効果を増強しなかった。

(3) 本研究の位置づけ

脳循環におけるエストロゲン虚血後投与の効果、およびエストロゲンと低体温の相互作用に関して詳細に検討した研究は少ない。この点において本研究を行う意義と課題が残されている。

虚血性脳傷害の予防法の究明は脳循環不を伴いやすい内頸動脈や大動脈弓部手術の麻酔、ならびに急性循環不全・心停止などに伴う脳虚血患者を扱う麻酔および集中治療の臨床現場では特に重要であり、その成果は学問的な発展のみならず、医療の安全性に著しく貢献することが期待できる。

(4) 今後の展望

低体温療法に関して、温度設定、持続時間、

復温の方法などが、実験結果に影響を与えると考えられる。エストロゲン投与方法に関連して、投与のタイミング、投与量に検討の余地が残されている。実験動物について、雌雄と月齢(若年または老齢)の違いが、実験結果にどのように影響するか、更なる検討を必要とする。

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)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計2件)

- ① 長崎 剛、戸部善継、西川俊昭 エストロゲン虚血後投与がラット海馬CA1細胞と短期記憶に及ぼす効果. 第57回日本麻酔科学会(福岡) 2010年6月
- ② Nagasaki G, Horiguchi T, Tobe Y, Nishikawa T: Long-term effects of post-treatment with estrogen on brain injury in a rat forebrain ischemia model. Annual Meeting of the American Society of Anesthesiologists (San Diego, USA). October 17, 2010.

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長崎 剛 (秋田大学・医学部・助教)

研究者番号: 60292380

(2) 研究分担者

合谷木徹 (秋田大学・医学部・講師)

研究者番号：30302277

木村 哲（秋田大学・医学部・講師）

研究者番号：00312702

安部恭子（秋田大学・医学部・助教）

研究者番号：30311575

佐藤浩司（秋田大学・医学部・助教）

研究者番号：80333938