

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09034

研究課題名(和文) 広範囲脳梗塞に対する減圧開頭術後の再灌流障害に対する新規治療戦略の開発

研究課題名(英文) Hydrogen therapy for re-perfusion injury after decompressive craniectomy against malignant cerebral infarction

研究代表者

竹内 誠 (Satoru, Takeuchi)

防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・脳神経外科学・講師)

研究者番号：30794127

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、広範囲脳梗塞に対する減圧開頭術後の再灌流障害に対する水素投与の効果調べた。まず、ラット中大脳動脈閉塞・再灌流モデルを用い、水素投与群、非投与群、sham群に分けた。24時間後、48時間後の組織学的検討において、水素投与群では、脳皮質、海馬における8-OHdG陽性細胞数の減少、TUNEL陽性細胞の減少、Water contentの減少を認めた。また、水素投与群では、24時間後の脳梗塞範囲の減少、神経学的所見の改善、生存率の上昇を認めた。本研究により、広範囲脳梗塞後減圧開頭術後における水素投与は新たな治療戦略の1つとなり得ることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

広範囲脳梗塞は依然予後が極めて不良な疾患群である。減圧開頭術が適応となる場合があるが、術後難治性の頭蓋内圧亢進状態となる症例をしばしば経験し、再灌流障害は病態の1つと考えられる。また、活性酸素腫が再灌流障害の病態に深く関与していることが示されており、我々は、強い抗酸化作用を示す水素が治療手段の1つとなり得ると考え、本研究を施行した。本研究により、広範囲脳梗塞に対する減圧開頭術後における水素投与は、再灌流障害を抑制することにより機能予後改善につながることを示唆され、新たな治療戦略の1つとなり得ると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate the effect of hydrogen for re-perfusion injury after decompressive craniectomy against malignant cerebral infarction. We examined that effect using the intraluminal filament middle cerebral artery occlusion stroke model in rats. Rats were randomly divided into three groups: sham, non-hydrogen group (vehicle), hydrogen group. The evaluations of histological and functional outcome were done at 24 and 48 hours after stroke. Hydrogen group exhibited a significantly lower number of 8-OHdG and TUNEL positive cells in the brain cortex and hippocampus at 24 and 48 hours after stroke. At 24 hours, hydrogen reduced infarction volume and improved functional outcome.

研究分野：脳神経外科

キーワード：再灌流障害 酸化ストレス 水素 広範囲脳梗塞 減圧開頭術

1. 研究開始当初の背景

脳梗塞は脳血管障害の代表疾患であり、人口高齢化に伴い、患者数が増加しつつある。近年アルテプラゼ静注療法や血管内治療などの血行再建治療の発達により、機能予後の改善が得られつつあるが、特に広範囲脳梗塞などの重症例の予後は依然として不良である。広範囲脳梗塞症例では、再灌流障害などによる脳浮腫の進行により脳ヘルニアに陥る可能性があり、減圧開頭術の適応となる場合がある。しかし、減圧開頭術後にさらに脳腫脹が進行し、難治性の頭蓋内圧亢進状態となる症例をしばしば経験する。減圧開頭術後の反跳性の頭蓋内圧亢進の機序として脳血流増加や開頭縁での脳損傷などが報告されているが、解明に至っていない。我々は、これまでの研究成果から、広範囲脳梗塞に対する減圧開頭術によって再灌流障害が助長されると考えている。一方、2007年、初めて水素が抗酸化物質として有効であり活性酸素種由来の傷害から細胞を保護すると報告された(Ohsawa et al. Nature Medicine 2007)。この報告以降、抗酸化物質としての水素に注目が集まり、水素ガス吸入や水素ガス含有水の投与によって、脳梗塞、虚血性肺障害、虚血性心疾患、虚血性肝障害や敗血症など各種疾患モデルにおいて臓器保護効果が認められている。しかし、減圧開頭術を施行した広範囲脳梗塞後の水素投与効果を検討した研究はまだない。水素が他の抗酸化物質と比べて有利な点として、拡散しやすく脳血液関門と容易に通過し、核やミトコンドリアといった細胞内器官に容易に到達できること、及び副作用や安全性の面からも大きな有害事象の報告はないことが挙げられる。以上から、広範囲脳梗塞に対する減圧開頭術後の再灌流障害に対して、非常に強力かつ安全性の高い水素が有効であると仮説し、本研究を計画した。

2. 研究の目的

本研究では、広範囲脳梗塞に対する減圧開頭術後の再灌流障害に対する水素投与の効果を調べた。

3. 研究の方法

ラット中大脳動脈閉塞・再灌流モデルを使用した。イソフルランによる全身麻酔及び気管挿管・人工呼吸管理下のラット(Sprague Dawley rat、雄、9-11週)の頸部を皮膚切開し、頸動脈から4-0フィラメントを中大脳動脈へ挿入し(中大脳動脈閉塞)2時間後に解除した。その後頭頂部を皮膚切開し、右頭頂骨を除去した(減圧開頭)。手技中、血液ガス分析を行い、 pO_2 、 pCO_2 、 pH を一定に保った。水素投与は1.3%水素ガスを用いた。本モデルを使用し、水素投与群、非投与群、sham群に分けた。組織学的評価として、24時間後にBrain water content、TTC染色(損傷量を評価)、Albumin染色(脳血液関門破綻を評価)、Nissl & TUNEL染色(apoptosis評価)、8-OHdG染色(核酸化ストレス評価)、MMP-2/9染色を検討した。脳組織評価は脳皮質、海馬において行った。24、48時間後に神経学的所見(28-point neuroscore)を評価した。

4. 研究成果

3群間で血液ガスパラメータに差がないことを確認した。24時間後、48時間後の組織学的検討において、水素投与群では、脳皮質、海馬における8-OHdG陽性細胞数の減少($P<0.01$)、TUNEL陽性細胞の減少($P<0.05$)、Water contentの減少($P<0.01$)を認めた。また、水素投与群では、24時間後の脳梗塞範囲の減少($P<0.01$)、神経学的所見の改善($P<0.01$)、生存率の上昇($P<0.01$)を認めた。つまり、本モデルにおいて、水素投与は酸化ストレスを抑制し、機能改善効果を示すことを見出した。また、水素投与群において、脳内アルブミン漏出の減少($P<0.05$)、MMP-9活性の低下($P<0.01$)が観察された。このことから、水素投与は脳内酸化ストレスの減少によるMMP-9活性の抑制を介して、血液脳関門の破綻を抑制した可能性が示唆された。本研究により、広範囲脳梗塞後減圧開頭術後における水素投与は新たな治療戦略の1つとなり得ることが示唆された。

<引用文献>

Ohsawa et al, Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals, Nat Med, 2007, 13(6):688-694

Takeuchi S et al, Hydrogen may inhibit collagen-induced platelet aggregation: an ex vivo and in vivo study, Intern Med, 2012, 51(11):1309-1313

Takeuchi S et al, Hydrogen improves neurological function through attenuation of blood-brain barrier disruption in spontaneously hypertensive stroke-prone rats, BMC Neurosci, 2015, 20;16:22

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

Takeuchi S et al、Effects of intravenous infusion of hydrogen-rich fluid combined with intra-cisternal infusion of magnesium sulfate in severe aneurysmal subarachnoid hemorrhage: study protocol for a randomized controlled trial、BMC Neurol、2014、14:176.

Nagatani K, Wada K, Takeuchi S et al、Effect of hydrogen gas on the survival rate of mice following global cerebral ischemia、Shock、2012、37(6):645-652

Takeuchi S et al、Hydrogen does not Exert Neuroprotective Effects or Improve Functional Outcomes in Rats After Intracerebral Hemorrhage、Turk Neurosurg、2016、26(6):854-859

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

遠藤あるむ、竹内誠 他、急性硬膜下血腫の減圧開頭術後再灌流傷害に対する水素の効果に関して、第 29 回脳神経外科救急学会、2024

遠藤あるむ、竹内誠 他、水素のラット重症頭部外傷減圧開頭モデルにおける再灌流障害の抑制効果について、第 47 回日本脳神経外傷学会、2024

竹内誠 他、重症くも膜下出血患者に対する水素点滴投与及び脳槽内マグネシウム投与の有用性に関するランダム化比較試験 - 最終報告 - ,Stroke 2022

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究分担者 研究分担者氏名

和田孝次郎

(2)研究協力者 研究協力者氏名

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹内誠、豊岡輝繁、和田孝次郎、森健太郎
2. 発表標題 重症くも膜下出血患者に対する水素点滴投与及び脳槽内マグネシウム投与の有用性に関するランダム化比較試験 - 最終報告 -
3. 学会等名 Stroke2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 遠藤あるむ、竹内誠、豊岡輝繁、藤井和也、戸村哲、中川政弥、吉浦徹、佐藤翔、田之上俊介、富山新太、三島有美子、和田孝次郎
2. 発表標題 急性硬膜下血腫の減圧開頭術後再灌流傷害に対する水素の効果に関して
3. 学会等名 第29回脳神経外科救急学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 遠藤あるむ、竹内誠、豊岡輝繁、藤井和也、戸村哲、中川政弥、吉浦徹、佐藤翔、田之上俊介、富山新太、三島有美子、和田孝次郎
2. 発表標題 水素のラット重症頭部外傷減圧開頭モデルにおける再灌流障害の抑制効果について
3. 学会等名 第47回日本脳神経外傷学会
4. 発表年 2024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
研究分担者	和田 孝次郎 (Wada Kojiro) (70649409)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・脳神経外科学・教授) (82406)	

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
---------	---------