

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 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591703

研究課題名（和文） 虚血性脊髄傷害における Rho キナーゼ阻害薬の脊髄保護効果

研究課題名（英文） Neuroprotective effects of a Rho-kinase inhibitor after transient spinal cord ischemia in rats.

研究代表者

西川 俊昭（NISHIKAWA TOSHIAKI）

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：50156048

研究成果の概要（和文）：Rho キナーゼ阻害薬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。本研究ではラット一過性脊髄虚血モデルを用い、Rho キナーゼ阻害薬（ファスジル）の脊髄保護効果を検討した。ファスジル 10 mg/kg の虚血前及び虚血後投与は、虚血 7 日後及び 14 日後の神経学的及び組織学的傷害を軽減した。

研究成果の概要（英文）：Fasudil, a Rho-kinase inhibitor, has been reported to provide neuroprotective effects in several cerebral ischemia models, and we have also reported that fasudil attenuated neuronal injury in a rat transient cerebral ischemia-reperfusion model. We investigated whether fasudil 10 mg/kg provide the neuroprotective effects in a rat transient spinal cord ischemia-reperfusion model in terms of neurologic and histologic outcomes. Fasudil improved the histologic and neurologic outcomes on the 7th day and 14th day after ischemia.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：虚血性脊髄傷害、Rho キナーゼ阻害薬、ファスジル

1. 研究開始当初の背景

脳虚血後、虚血周辺部ではマイクログリア、周辺部から梗塞巣にかけてはマクロファージの活性化が生じ、組織傷害性サイトカイン

が放出される。この一連の反応に Rho キナーゼを介した経路が関わり、病態を増悪している可能性が示唆されている。Rho キナーゼ阻

害薬は、これらマイクログリア、マクロファージ、顆粒球などの機能、さらにフリーラジカルストレスの増強効果を抑制し、脳組織に対して保護的に働くと推測され、また神経損傷後の再生を促進することが報告されている。しかし脊髄虚血に対する Rho キナーゼ阻害薬の神経保護効果は、これまで報告されていない。

2. 研究の目的

本研究ではラット一過性脊髄虚血モデルを用い、Rho キナーゼ阻害薬（ファスジル）の脊髄保護効果を、神経学的ならびに組織学的（死亡細胞と生存細胞の判別、アポトーシスの評価）に検討した。

3. 研究の方法

(1) 【ファスジル虚血前投与 7 日間】

雄性 Sprague-Dawley ラットを用い、自発呼吸によるハロタン麻酔下に、右大腿静脈（輸液・薬物投与用）、尾動脈（末梢側動脈圧測定用）、右総頸動脈（中枢側動脈圧測定・脱血用）に PE-50 カテーテルを留置した。体温測定プローベを傍脊柱筋内に挿入し、37.5 ± 0.3°C に維持した。右総頸動脈からの脱血により中枢側平均動脈圧を 40 mmHg に低下させると同時に、右大腿動脈から挿入した 2 Fr. Fogarty カテーテルのバルーンを膨張させて一過性脊髄虚血を誘導し、末梢側平均動脈圧を 10 mmHg 未満に維持した。10 分後、バルーン虚脱と返血により再灌流した。ラットを 3 群に分け、対照（C）群には生理食塩水、ファスジル（F）群にはファスジル 10 mg/kg を、虚血開始 35 分前から 30 分間で静脈内投与した。シャム（S）群には虚血を誘導しなかった。虚血 1 日及び 7 日後に下肢運動欠損スコア（0 点：正常～8 点：下肢麻痺）を評価した。脊髄虚血 7 日後に脊髄を灌流固定し、第 4 腰椎の脊髄冠状切片を HE 染色した後、光学顕

微鏡で灰白質の前角正常細胞を観察した。

(2) 【ファスジル虚血前投与 14 日間】

(1) と同様のモデルを用いて、虚血 1 日、7 日、14 日後に下肢運動欠損スコアを評価した後、組織を灌流固定し組織学的評価を行った。

(3) 【ファスジル虚血後投与 7 日間】

(1) と同様のモデルを用いて、対照群には生理食塩水、ファスジル群にはファスジル 10 mg/kg を、虚血再灌流 5 分後から 60 分間で静脈内投与した。虚血 1 日、7 日後に下肢運動欠損スコアを評価した後、組織を灌流固定し組織学的評価を行った。

4. 研究成果

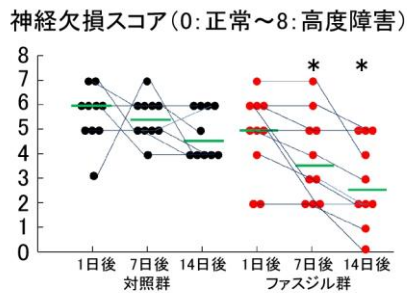
(1) 【ファスジル虚血前投与 7 日間】

1 日後 [7 日後] の下肢神経欠損スコア（中央値）は S 群 0 [0]、C 群 5.5 [6]、F 群 6 [5.5] で、群間差はなかった。前角正常細胞数は、S 群 35 ± 3 個、C 群 10 ± 7 個、F 群 23 ± 9 個（平均 ± 標準偏差）で、C 群より S 群と F 群で有意に多かった。脊髄白質障害は C 群 (32 ± 20%) と比べ F 群 (13 ± 6%) で有意に少なかった。

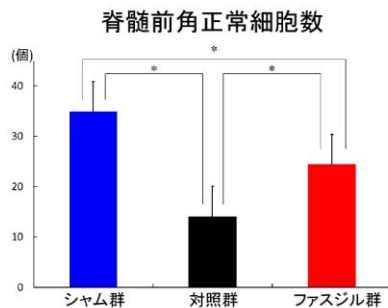
(2) 【ファスジル虚血前投与 14 日間】

1 日後 [7 日後] [14 日後] の下肢神経欠損スコアは S 群 0 [0] [0]、C 群 6 [5.5] [4.5]、F 群 5 [3.5] [2.5] で、虚血 7 日後及び 14 日後で有意に F 群の神経障害が軽度であった。14 日後の前角正常細胞数は、S 群 35 ± 3 個、C 群 14 ± 10 個、F 群 26 ± 6 個で、C 群より S 群と F 群で有意に多かった。脊髄白質障害は C 群 (35 ± 22%) と比べ F 群 (19 ± 8%) で有意に少なかった。

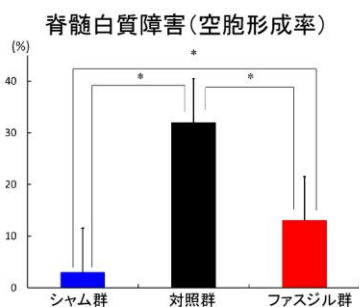
図:虚血前投与 14 日後の神経学的及び組織学的評価



* P < 0.05 vs 対照群



* P < 0.05



* P < 0.05

(3) 【ファスジル虚血後投与 7 日間】

1 日後[7 日後]の下肢神経欠損スコアは S 群 0[0]、C 群 5.5[6]、F 群 7[6] で、群間差はなかった。7 日後の前角正常細胞数は、S 群 35±3 個、C 群 10±7 個、F 群 21±10 個

で、C 群より S 群と F 群で有意に多かった。

以上の結果をまとめると、ファスジル 10 mg/kg の虚血前及び虚血後投与は、虚血 7 日後の組織学的傷害をほぼ同程度軽減した。また、ファスジル 10 mg/kg 虚血前投与は虚血 7 日後及び 14 日後の神経学的障害及び組織学的傷害を軽減した。このことからファスジルの脊髄保護効果は、短期的なものではなく長期にわたり維持される可能性があることが示唆された。

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 5 件)

- ① 木村哲、中島麻衣子、梅原志乃、戸部善継、真崎容子、西川俊昭、ラット一過性脊髄虚血傷害における Rho キナーゼ阻害薬 (ファスジル) の脊髄保護効果、日本麻酔科学会第 58 回学術集会、2011 年 5 月 19 日、神戸
- ② Tetsu Kimura, Yoshitsugu Tobe, Yoko Masaki, Toshiaki Nishikawa, Neuroprotective effects of a Rho-kinase inhibitor (fasudil) in a rat transient spinal cord ischemia-reperfusion model, 2011 Annual meeting of American Society of Anesthesiologists, 2011 年 10 月 18 日, Chicago (USA)
- ③ 大淵真彦、木村哲、西川俊昭、ラット一過性脊髄虚血傷害における Rho キナーゼ阻害薬 (ファスジル) 虚血前投与の脊髄保護効果、日本蘇生学会第 31 回大会、2012 年 11 月 24 日、大津
- ④ Masahiko Obuchi, Masayuki Fukuda, Tetsu Kimura, Toru Goyagi, Yoshitsugu Tobe, Yoko Masaki, Toshiaki Nishikawa,

Neuroprotective effects of pretreatment with fasudil (Rho-kinase inhibitor) in a rat transient spinal cord ischemia reperfusion model, The 3rd Meeting of Asian Society for Neuroanesthesia and Critical Care, 2013 年 2 月 22 日, Bali (Indonesia)

- ⑤ 大渊真彦、木村 哲、戸部善継、真崎容子、西川俊昭、ラット一過性脊髄虚血モデルにおける Rho キナーゼ阻害薬（ファスジル）虚血前投与の脊髄保護効果、日本麻酔科学会第 60 回学術集会、2013 年 5 月 23 日、札幌

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西川 俊昭 (NISHIKAWA TOSHIAKI)

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：50156048

(2) 研究分担者

合谷木 徹 (GOYAGI TORU)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：30302277

木村 哲 (KIMURA TETSU)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：00312702