

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 10 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791755

研究課題名（和文）実験的マウス頭部外傷モデルにおけるエダラボンの一酸化窒素除去能について

研究課題名（英文）The scavenging effect of edaravone to nitric monoxide in mice traumatic brain injury.

研究代表者

宮本 和幸 (MIYAMOTO KAZUYUKI)

昭和大学・医学部・助教

研究者番号：80555087

研究成果の概要（和文）：重症頭部外傷は未だに救命が困難な疾患の一つである。本研究ではマウス頭部外傷モデルにおけるエダラボンの神経保護作用について検討した。雄性マウスに頭部外傷を作成し受傷後の活性酸素種、酸化ストレス、神経細胞死について経時に観察した。活性酸素種過剰産生と酸化ストレス・神経細胞死には時間的解離が存在し、受傷後 3 時間のエダラボン（3.0mg/kg）で最も高い神経保護作用が認められた。至適なタイミングによるエダラボン投与が、頭部外傷の治療効果をより高めるため有用であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Mice were subjected to controlled cortical impact (CCI). Post-CCI, $O_2^{\cdot-}$ production was obvious by 3 hours post-CCI, with oxidative stress and neuronal cell death becoming apparent after 6 hours. Therefore, edaravone (3.0mg/kg) or saline as a vehicle was administered intravenously either immediately (0 hours) or 3 or 6 hours post-CCI. Administration of edaravone 0, 3 or 6 hours post-CCI resulted in a significant reduction in the injury volume and level of oxidative stress compared with the control. The greatest decrease in $O_2^{\cdot-}$ levels was observed when edaravone was administered 3 hours post-CCI. The current findings suggest that CCI produces excessive $O_2^{\cdot-}$, leading to oxidative stress and neuronal cell death. However these effects can be ameliorated by edaravone treatment, particularly if the drug is administered 3 hours post-CCI.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,800,000	540,000	2,340,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：頭部外傷, エダラボン, 活性酸素種, 酸化ストレス, 神経細胞死, Therapeutic time window.

1. 研究開始当初の背景

重症頭部外傷は未だに救命が困難な疾患の一つである。その病態には受傷直後におこる一次性脳損傷とその後生じる二次性脳損傷が知られている。この二次性脳損傷の抑制が患者の予後決定に非常に重要であり、活性酸素や酸化ストレスの関与が示唆されている。しかし、未だにこの二次性脳損傷を抑制する有効な治療法は確立されていない。エダラボンは活性酸素消去作用をもち脳梗塞で神経保護薬として臨床で用いられている。しかし、頭部外傷における神経保護作用については十分な検討が行われていない。

2. 研究の目的

本研究はマウス頭部外傷モデルを用いて頭部外傷後の活性酸素種、酸化ストレス産生、神経細胞死を経時的に観察し、エダラボンの神経保護作用、その作用部位、至適投与時間について検討した。

3. 研究の方法

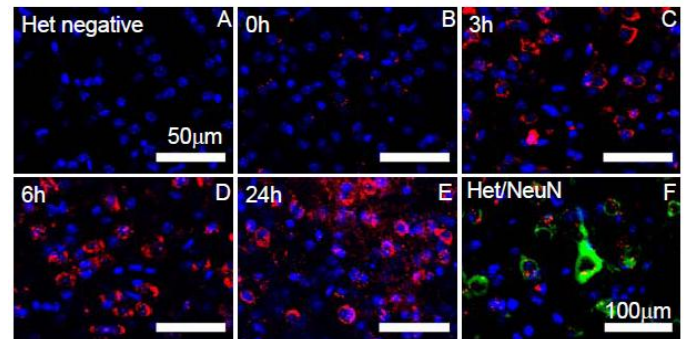
(1) 雄性マウスの右頭頂部にインパクトにより頭部外傷を作成した。頭部外傷後 0, 3, 6, 24 時間後の活性酸素種産生(スーパーオキシド (O_2^-))を Hydroethidium を経静脈的投与し評価した。次に、頭部外傷後 0, 3, 6, 24 時間後の組織酸化ストレス Nitrotyrosine (O_2^- と一酸化窒素の代謝産物)の免疫染色、神経細胞死を Fluoro Jade B 染色、Toluidine blue 染色をおこない経時的に観察した。

(2) 頭部外傷後 0, 3, 6 時間後にエダラボン (3.0mg/kg) を経静脈内投与し、24 時間後の神経細胞死領域、酸化ストレスについて溶媒投与群と比較した。また、直接インパクトの接触する領域を core injury area, その他の領域を peri injury area と定義し領域別に神経細胞死領域・酸化ストレスについて算出した。

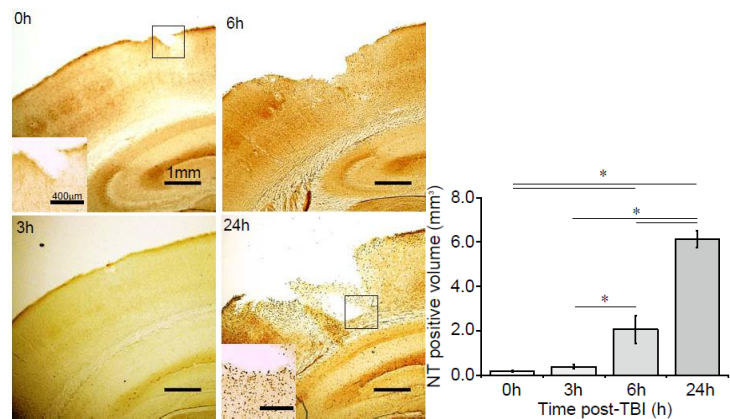
(3) 頭部外傷から 3 時間後に生理食塩水またはエダラボン (3.0mg/kg) を投与し脳内 O_2^- 産生について Hydroethidium を用いて評価した。

4. 研究成果

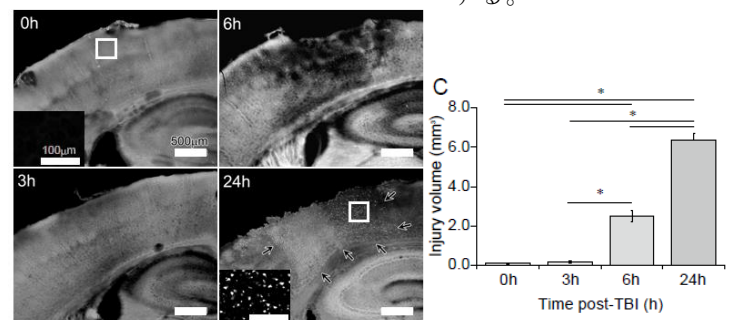
(1) 頭部外傷後活性酸素種(スーパーオキシド)は 3 時間後から過剰産生され主に神経細胞に発現している。



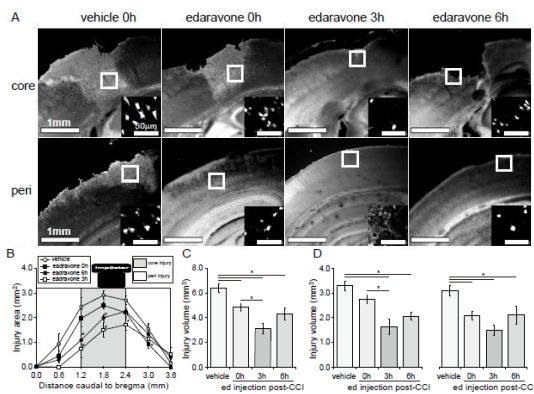
(2) 組織酸化ストレス (Nitrotyrosine) は頭部外傷 6 時間後から出現する。



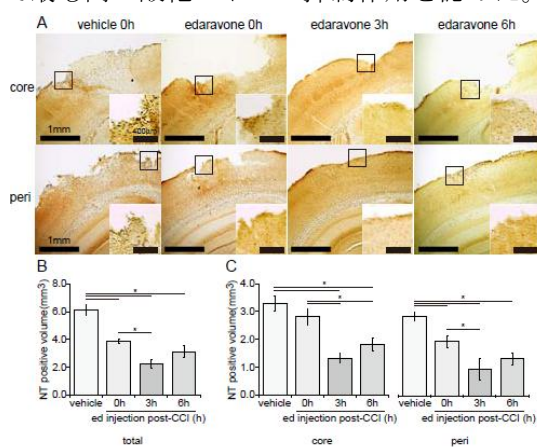
(3) 神経細胞死は頭部外傷 6 時間後から出現する。



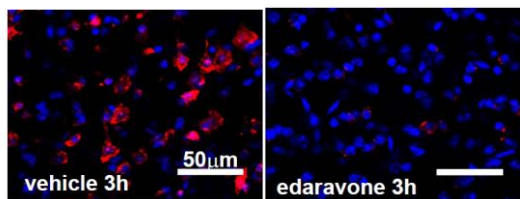
(4) 頭部外傷後 0, 3, 6 時間後のエダラボン投与は有意に損傷体積を減少させた。中でも受傷後 3 時間後のエダラボン投与で最も高い神経保護作用を認めた。



(5) 頭部外傷後 0, 3, 6 時間後のエダラボン投与は有意に組織酸化ストレスを減少させた。中でも受傷後 3 時間後のエダラボン投与で最も高い酸化ストレス抑制作用を認めた。



(6) 頭部外傷 3 時間後のエダラボン投与は対照群と比較して損傷領域におけるスーパーオキシサイド抑制を認めた。



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 12 件)

① Kazuyuki Miyamoto, Hirokazu Ohtaki, Kenji Dohi, Tomomi Tsumuraya, Hiroyasu Nakano, Keisuke Kiriya, Dandan Song, Tohru Aruga, and Seiji Shioda. Edaravone increases regional cerebral blood flow after traumatic brain injury in mice. *Acta Neurochirurgica suppl.* 査読有 .2012.In press.

② Hirokazu Ohtaki, Tomomi Tsumuraya,

Dandan Song, Atsushi Sato, Kenji Ohara, Kazuyuki Miyamoto, Hiroyasu Nakano, Keisuke Kiriya, Kenji Dohi, Yutaka Hiraizumi, Masaji Matsunaga, and Seiji Shioda. *Neurochirurgica suppl.* 査読有 .2012.In press.

③ 宮本和幸, 三宅康史, 渡邊真樹子, 福田賢一郎, 森川健太郎, 中村俊介, 土肥謙二, 有賀徹, 日本集中治療医学会雑誌、査読有、19 巻、2012、215-7

④ 宮本和幸, 峯村純子, 渡邊真樹子, 中村俊介, 三宅康史, 有賀徹, 上部消化管内視鏡を用いた胃石除去が奏功した急性薬物中毒の一例、中毒研究、査読有、2012、In press

⑤ 宮本和幸, 土肥謙二, 蘇生後脳症に対する高圧酸素療法の活用、日本臨床、査読無、69、2011、648-51

⑥ 宮本和幸, 土肥謙二, 渡邊真樹子, 西潟一也, 福田賢一郎, 森川健太郎, 中村俊介, 三宅康史, 有賀徹, 胸骨圧迫により一過性完全右脚部麻痺を呈した鈍的心筋挫傷の 1 例、日救医学会関東誌、査読無、32、2011、42-3

⑦ 宮本和幸, 土肥謙二, 神田潤, 山本武史, 中村俊介, 三宅康史, 有賀徹, たこつぼ型筋症を合併した重症一酸化炭素中毒の 1 例、日本救急医学会雑誌、査読有、21 巻 2010、293-8

⑧ 宮本和幸, 山本武史, 土肥謙二, 神田潤, 西潟一也, 中村俊介, 田中啓司, 三宅康史, 有賀徹, 外傷性左横隔膜ヘルニアによる圧迫で心筋虚血を呈したと考えられる 1 例、日救医学会関東誌、査読有、31 巻、2010、12-3

⑨ 宮本和幸, 土肥謙二, 中村俊介, 山本武史, 西潟一也, 渡邊真樹子, 三宅康史, 有賀徹, 出血性ショックにより血行力学的脳梗塞をきたした一例、*Neurosurg Emerg*、査読有、15 巻、2010、200-5

⑩ 宮本和幸, 有賀徹, 実践!画像の見かた疾患編 頭部外傷 外傷性くも膜下出血、*Brain Nursing*、査読無、2010.201-3

⑪ Dohi K, Ohtaki H, Nakamachi T, Yofu S,

Satoh K, Miyamoto K, Song D, Tsunawaki

S, Shioda S, and Aruga T. Gp91phox

(NOX2) in classically activated microglia

exacerbates traumatic brain injury. *J*

Neuroinflammation. 査読有, 26, 2010.

⑫ Ohtaki H, Satoh A, Nakamachi T, Yofu S,

Dohi K, Mori H, Ohara K, Miyamoto K,

Hashimoto H, Shintani N, Baba A,

Matsunaga M, and Shioda S. Regulation of

Oxidative Stress by Pituitary

Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) Mediated by PACAP Receptor. J Mol Neurosci. 査読有 2010, 42, 397-403.

〔学会発表〕(計 8 件)

①宮本和幸、大滝博和、土肥謙二、佐藤和恵、有賀徹、塩田清二、マウス頭部外傷モデルにおけるエダラボンの神経保護作用についての検討、第 117 回日本解剖学会総会、2012 年 3 月 28 日、甲府

②宮本和幸、大滝和博、土肥謙二、中野弘康、中村俊介、三宅康史、有賀徹、マウス頭部外傷モデルにおけるエダラボンの therapeutic time window についての検討、第 35 回日本脳神経外傷学会、2012 年 3 月 9 日、東京

③宮本和幸、土肥謙二、三宅康史、有賀徹、マウス頭部外傷モデルにおけるエダラボンの therapeutic time window についての検討、第 39 回日本集中治療医学会総会、2012 年 2 月 28 日、千葉

④Kazuyuki Miyamoto, Hirokazu Ohtaki, Kenji Dohi, Dandan Song, Tomomi Tsumuraya, Hiroyasu Nakano, Keisuke Kiriyaama, Haruaki Kageyama, Tohru Aruga, and Seiji Shioda. Edaravone suppressed secondary neuronal cell damage after traumatic brain injury in mice, SfN's annual meeting 2011, 2011 年 11 月 14 日, Washington.D.C.

⑤Kazuyuki Miyamoto, Hirokazu Ohtaki, Kenji Dohi, Dandan Song, Tomomi Tsumuraya, Hiroyasu Nakano, Keisuke Kiriyaama, Tohru Aruga and Seiji Shioda, Therapeutic time window of edaravone on traumatic brain injury in mice, The XVth International Symposium of Brain Edema and Cellular Injury, 2011 年 10 月 23 日, Tokyo

⑥宮本和幸、福島元彦、福成信博、御子神哲也、新井一成、甲状腺癌食道浸潤に対して内視鏡的エタノール注入療法が奏功した一例、第 82 回日本消化器内視鏡学会、2011 年 10 月 23 日、福岡

⑦宮本和幸、土肥謙二、三宅康史、有賀徹、マウス頭部外傷モデルにおけるエダラボンの神経保護作用についての検討、第 39 回日本救急医学会総会、2011 年 10 月 20 日、東京

⑧宮本和幸、土肥謙二、渡邊真樹子、西潟一也、福田賢一郎、森川健太郎、中村俊介、田中啓司、三宅康史、有賀徹、経胸壁超音波を用いて経過観察をおこなった外傷性胸部大動脈解離の一例、第 14 回日本臨床救急医学会、2011 年 6 月 3 日、札幌

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮本 和幸 (MIYAMOTO KAZUYUKI)

昭和大学・医学部・助教

研究者番号：80555087

(2) 研究協力者

塩田 清二 (SHIODA SEIJI)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：10680708

有賀 徹 (ARUGA TOHRU)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：40266086

大滝 博和 (OHTAKI HIROKAZU)

昭和大学・医学部・助教

研究者番号：20349062

土肥 謙二 (DOHI KENJI)

昭和大学・医学部・講師

研究者番号：20301509

佐藤 和恵 (SATO KAZUE)

昭和大学・医学部・名誉教授

研究者番号：90053941