

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462396

研究課題名(和文) ATP感受性カリウムチャネル開口薬と $\alpha 2$ 受容体作動薬の併用療法による脳保護効果研究課題名(英文) The neuroprotective effects of a combination of $\alpha 2$ agonist and KATP channel opener after transient forebrain ischemia in rats

研究代表者

佐藤 浩司 (SATO, KOJI)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号：80333938

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ラット一過性前脳虚血モデルにおいて、 $\alpha 2$ アゴニストであるデクスメトミジンは虚血3日後の脳保護効果を認め、またATP感受性カリウムチャネル開口薬であるニコランジルにおいては、有意差はないものの海馬CA1細胞の生存率が高い傾向にあった。併用療法は各単独療法と比べ、虚血3日後の脳保護増強効果を認めなかった。

研究成果の概要(英文)：The combination of dexmedetomidine and nicorandil provided comparable short-term neuroprotection with either of the two therapies alone after transient forebrain ischemia in rats.

研究分野：麻酔科学・蘇生学

キーワード：一過性前脳虚血 ニコランジル デクスメトミジン

1. 研究開始当初の背景

(1) 虚血脳障害の主な機序として、興奮性アミノ酸の細胞外への遊離、NMDA 受容体刺激による一酸化窒素 (NO) の異常産生、フリーラジカル (superoxide) の産生、一酸化窒素と superoxide の結合物 (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流入などがある (J Appl Physiol 1991)。

(2) 2 アドレナリン受容体作動薬 (2 アゴニスト) は虚血に伴う脳内ノルエピネフリン濃度の上昇を抑制し (Anesthesiology 1997)。一方、ATP 感受性カリウムチャネル開口薬は興奮性アミノ酸であるグルタミン酸の放出抑制 (Exp Neurol 2003) やカルシウムイオンのミトコンドリア内への流入抑制 (Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002) によって脳保護作用を示すと報告されている。しかし、これら脳保護効果を示す薬物の併用療法の効果については報告がない。

2. 研究の目的

脳虚血中に 2 アゴニストであるデクスメトミジンと、ATP 感受性カリウムチャネル開口薬であるニコランジルを併用投与した際の脳保護効果についてを短期的予後で検討する。

3. 研究の方法

(1) ニコランジル 3mg/kg 腹腔内投与
雄性 Sprague-Dawley ラット (300 ~ 400 g) 32 匹を用いて、ハロタン麻酔・調節呼吸を行う。

・尾動脈 (血圧測定・採血用)、右大腿静脈 (輸液・薬物投与)、右頸静脈 (脱血用) にカテーテルを留置する。

・頭頂部に脳血流測定用プローベを装着する。両側側頭筋に脳波電極、片側側頭筋および直腸に体温プローベを挿入する。実験中体温は 37.5 を維持する。

・処置後ハロタン投与を中止し、66% 亜酸化窒素とフェンタニルの 10 μ g/kg 単回投与および 25 μ g/kg/h の持続投与で麻酔を維持する。

・対照 (生食) (C) 群、デクスメトミジン 100 μ g/kg (D) 群、ニコランジル群 3mg/kg (N) 群、併用群 (DN) 群の 4 群に分ける。

・前脳虚血 30 分前に生食またはデクスメトミジンを腹腔内投与し、前脳虚血 5 分前にニコランジルを腹腔内投与する。脱血によって平均動脈圧を 40 mmHg に維持し、右総頸動脈閉塞により右側の前脳虚血状態とする。

・虚血 20 分後、頸動脈閉塞解除と返血によって脳の再灌流を行う。再還流 30 分後に麻酔から覚醒させる。

・虚血 24 時間、48 時間、72 時間後に神経学的検査 (Hoffmann 1991) を行う。神経学的検査は意識状態 (0-4 点)、プラットフォームに垂らしたロープをつかめるか (0-4 点)、四肢の緊張 (0-1 点)、歩行状態 (0-4 点)、網でできたスクリーンにつかまっていられるか (0-3 点)、痛みに対する反応 (0-1 点) で、計 0 点を障害なし、17 点を最重症とする。前脳虚血 3 日後にペントバルビタール麻酔下でパラホルムアルデヒドにて脳灌流固定後、脳冠状切片にヘマトキシリンエオジン染色を行う。光学顕微鏡的に尾状核レベルでの右大脳皮質の障害の程度、右海馬 CA1 細胞の生存率を比較する。大脳皮質の障害の程度は 0: 死亡細胞なし、1: 死亡細胞が散見、2: 小梗塞巣が尾状核と大脳皮質に存在、3: 尾状核の 50% を含む大梗塞巣が存在、4: 大脳半球の少なくとも 50% が梗塞、5: 大脳半球すべてが梗塞、の 6 段階で評価する。統計は、神経学的検査と大脳皮質の障害の程度については Steel-Dwass 検定、右海馬 CA1 細胞については分散分析を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとする。

(2) ニコランジル 0.075mg/kg/hr 静脈内持続投与

麻酔方法は (1) と同様。

・実験群は対照 (生食) (C) 群、デクスメトミジン 100 μ g/kg (D) 群、ニコランジル群 0.075mg/kg/hr (N) 群、併用群 (DN) 群の 4 群に分ける。

・前脳虚血 30 分前に生食またはデクスメトミジンを腹腔内投与し、ニコランジル群と併用群はニコランジルの持続投与を開始する。脱血によって平均動脈圧を 40 mmHg に維持し、右総頸動脈閉塞により右側の前脳虚血状態とする。

・虚血 20 分後、頸動脈閉塞解除と返血によって脳の再灌流を行う。再還流 30 分後にニコランジル投与終了し、麻酔から覚醒させる

・ (1) と同様の神経学的検査を行う。虚血 28 日後に脳灌流固定後、脳冠状切片にヘマトキシリンエオジン染色を行い、光学顕微鏡的に右大脳皮質の虚血脳障害の程度、右海馬 CA1 細胞の生存数を比較する。統計は (1) と同様の手法を用いる。

(3) ニコランジル 0.75mg/kg/hr 静脈内持続投与

麻酔方法は (1) と同じ。

・実験群は対照 (生食) (C) 群、デクスメトミジン 100 μ g/kg (D) 群、ニコランジル群 0.75mg/kg/hr (N) 群、併用群 (DN) 群の 4 群に分ける

・薬剤投与方法、虚血方法は (2) と同じ。

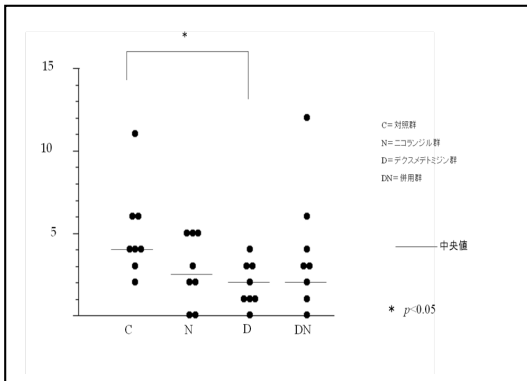
・ (1) と同様の神経学的検査を行う。虚

血 28 日後に脳灌流固定後、脳冠状切片にヘマトキシリンエオジン染色を行い、光学顕微鏡的に右大脳皮質の虚血脳障害の程度、右海馬 CA1 細胞の生存数を比較する。統計は(1)と同様の手法を用いる。

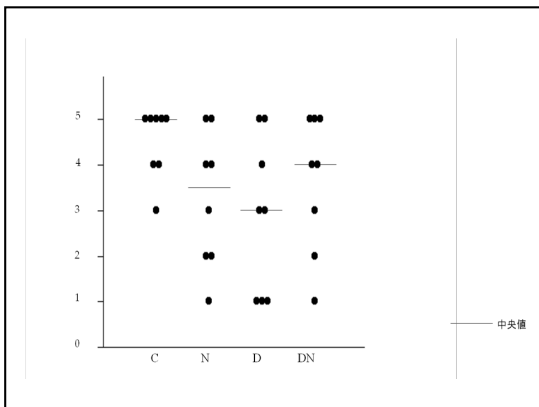
4. 研究成果

(1)ニコランジル 3mg/kg 腹腔内投与群

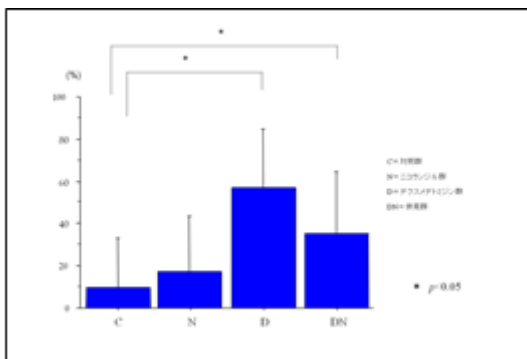
神経学的検査の3日目の合計においてC群とD群に有意差が認められたがその他の群間に有意差は認められなかった。



右大脳皮質の組織学的評価では群間に有意差は認められなかった。

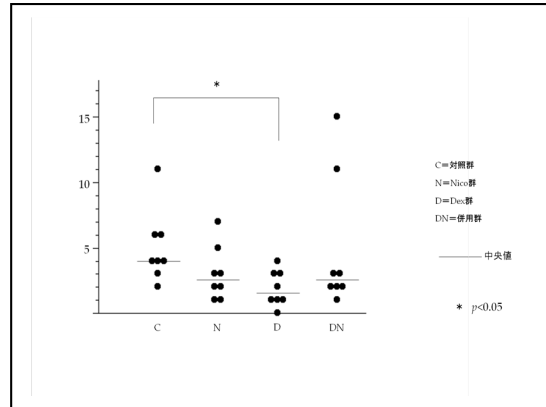


右海馬 CA1 細胞の生存率(%)はD群、DN群はC群と比して有意に大きかった。

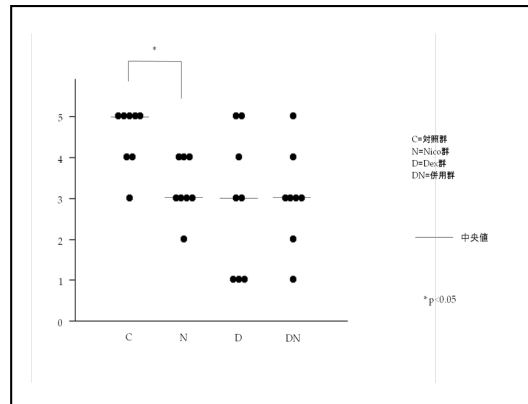


(2)ニコランジル 0.075mg/kg/hr の静脈内持続投与群

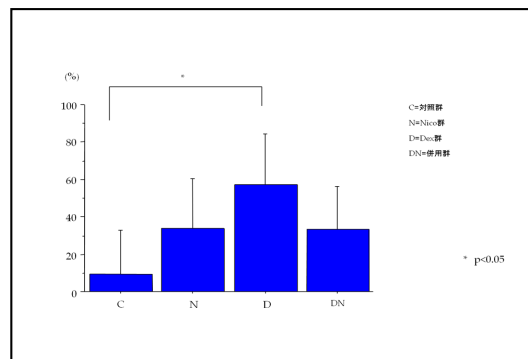
神経学的検査の3日目の合計においてC群とD群に有意差が認められたがその他の群間に有意差は認められなかった。



右大脳皮質の組織学的評価ではN群がC群と比して障害が少なかったが、その他の群間に有意差は認められなかった。

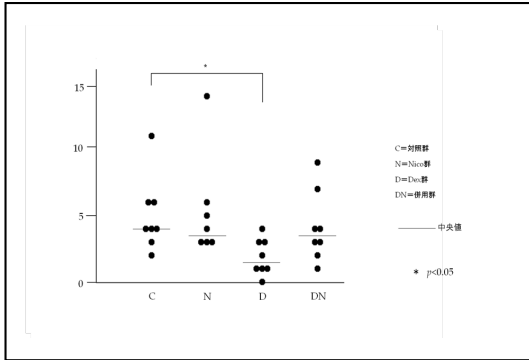


右海馬 CA1 細胞の生存率(%)はD群がC群と比して有意に大きかった。

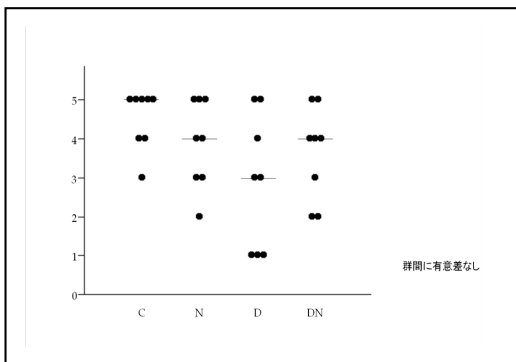


(3)ニコランジル 0.75mg/kg/hr の静脈内持続投与群

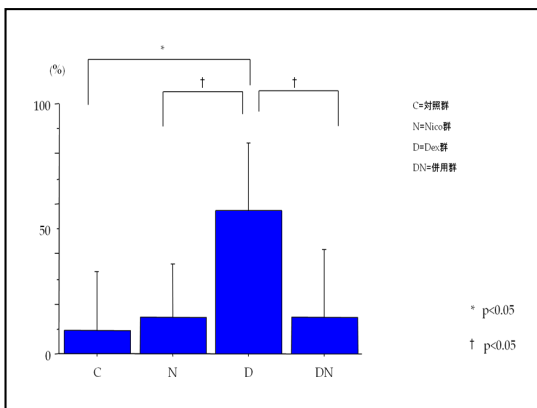
神経学的検査の3日目の合計においてC群とD群で有意差が認められたが、その他の群では認められなかった。



右大脳皮質の組織学的評価においては群間に有意差は認められなかった。



右海馬 CA1 細胞の生存率(%)はD群がC群と比して有意に大きかった。また、N群、DN群と比して有意に大きかった。



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4件)

中島麻衣子、佐藤浩司、西川俊昭、ラッ

トー過性前脳虚血モデルにおけるデクスメデトミジン-ニコランジル併用療法の脳保護効果、日本麻酔科学会第61回大会、2014.5.16 パシフィコ横浜(横浜)

中島麻衣子、佐藤浩司、西川俊昭、ラットー過性前脳虚血モデルにおけるデクスメデトミジン-ニコランジル併用療法の脳保護効果、日本麻酔科学会第62回大会、2015.5.29 神戸国際展示場(神戸)

中島麻衣子、佐藤浩司、西川俊昭、ラットー過性前脳虚血モデルにおけるニコランジルの脳保護効果：投薬方法の差異についての検討、日本蘇生学会第34回大会、2015.11.6 秋田市にぎわい交流館AU(秋田)

中島麻衣子、佐藤浩司、西川俊昭、ラットー過性前脳虚血モデルにおけるデクスメデトミジン-ニコランジル併用療法による脳保護効果、日本麻酔科学会第63回大会、2016.5.27 マリンメッセ福岡(福岡)

〔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

佐藤 浩司 (SATO KOJI)
秋田大学・医学部・助教
研究者番号：80333938

(2) 研究分担者

真崎 容子 (MASAKI YOKO)
秋田大学・医学(系)研究科(研究院)
研究者番号：30125744

西川 俊昭 (NISHIKAWA TOSHIAKI)
秋田大学・医学(系)研究科(研究院)
研究者番号: 50156048

中島 麻衣子 (NAKAJIMA MAIKO)
秋田大学・医学部・助教
研究者番号: 50534096

(3)連携研究者

()

研究者番号: