

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 9 月 24 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462328

研究課題名(和文) 虚血性脳傷害における分子状水素投与と脳低温療法の併用効果

研究課題名(英文) Effect of combined therapy with hydrogen gas and hypothermia in a rat model of transient forebrain ischemia

研究代表者

長崎 剛 (Nagasaki, Go)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号：60292380

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ラット一過性前脳虚血モデル(スミスモデル)を用い、1.3%水素ガス吸入と脳低温療法による脳保護効果を検討した。コントロール群(C群)、水素ガス群(G群)、脳低温療法群(H群)、水素ガス+脳低温療法群(GH群)に分け、脳低温群は虚血中に34℃まで冷却した。水素ガス吸入は再灌流60分後まで行った。実験7日後の海馬CA1領域の組織学的傷害をスコア化(6段階[1:傷害なし～6:重傷])したところ、中央値(四分位範囲)でC群5(0)、G群4.5(2)、H群3.5(1)、GH群2.5(2)であった。したがって、水素ガス吸入と脳低温療法を併用すると、各々単独に比べて脳保護効果が増強される傾向が認められた。

研究成果の概要(英文)：We examined whether combined treatment with 1.3% hydrogen gas and hypothermia reduces brain injury after transient forebrain ischemia in rats compared with either treatment alone. Rats were subjected to 10 minutes of forebrain ischemia followed by 7 days of reperfusion. Four groups were tested: group C (control); group G (hydrogen gas); group H (hypothermia, 34℃); and group GH (hydrogen gas + hypothermia). Neuronal damage in the CA1 subfield of the hippocampus was evaluated microscopically and graded on a damage score scale of 1, no damage～6, no intact neuron. The median injury score [interquartile range] was 5[0] for the group C, 4.5[2] for the group G, 3.5[1] for the group H and 2.5[2] for the group GH. The current study suggested that the neuroprotective efficacy of hypothermia could be increased by 1.3% hydrogen gas inhalation.

研究分野：麻酔科学

キーワード：水素ガス ラット 前脳虚血モデル 脳低温療法

## 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、カルシウムイオンの細胞内過剰流入、一酸化窒素の異常産生、フリーラジカルの産生、炎症反応の関与、脳内ノルエピネフリン濃度の上昇、およびアポトーシスの発生等である。

虚血再灌流の際に発生するフリーラジカルにより酸化ストレス障害が生じるが、従来の薬剤は発生したフリーラジカルを有効に除去できなかった。これに対し水素ガスは拡散性にすぐれ血流によらず患部に到達できるフリーラジカル消去剤となる。水素ガスは水にも油にも溶解し細胞膜を通過し、細胞内へ速やかに拡散する。ラット中大脳動脈閉塞モデルにおいて 2%水素ガスの吸入が有意に脳梗塞体積を縮小させた。(Ohsawa 2007)

一方、脳低温療法は脳代謝の抑制、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ことが知られている。脳低温療法は、虚血性脳傷害に対する予防・治療法として有効性が示され、すでに広く実用化されている。心臓外科手術(特に大動脈弓部置換術)で明らかのように、脳虚血前から体温を下げることにより、強力な脳保護効果が発揮される。しかし、救急医療の臨床で示されているように、脳の虚血再灌流後に治療を開始しても脳保護効果は不十分となりやすい。

虚血性脳傷害の治療戦略として水素ガス吸入と脳低温療法を併用することは、各々を単独で行うよりも治療効果が優れていると考えられる。しかし、この仮説を実証した動物実験は非常に少ない。

## 2. 研究の目的

ラット一過性前脳虚血モデルを用い、1.3%水素ガス吸入下において脳低温療法(虚血再灌流直後に開始)を行った場合の脳保護効果

を、1.3%水素ガス吸入単独または脳低温療法単独の組織学的効果と比較する。

## 3. 研究の方法

実験計画は施設の動物実験倫理委員会の審査と承認を得ている。

週齢 8~9 週の雄 SD ラット 30 匹を用い、コントロール群(C群)(n=6)、水素ガス群(G群)(n=8)、脳低温群(H群)(n=8)、水素ガス+脳低温群(GH群)(n=8)の4群に分けた。5%セボフルランで麻酔導入を行い、気管チューブを挿管し、人工呼吸を行った。麻酔をセボフルラン 3.5%、30%酸素とし、心電図、脳波、側頭筋温測定用プローブを装着後、右頸静脈、右大腿動脈にカテーテルを挿入した。次に全身麻酔をセボフルラン 2.5%、30%酸素で維持した。この間、ヒーティングランプで側頭筋温が 37.5 になるように調節した。

前脳虚血は、右頸静脈からの脱血により平均血圧を 40mmHg とした後、頸動脈の閉塞を行った。閉塞開始から 10 分後に頸動脈の閉塞解除と返血を行い、再灌流を行った。さらに再灌流の 1 時間後にセボフルランを止め、ラットを麻酔から覚醒させ、気管チューブを抜管した。

実験中の体温調節(図 1)は、C群とG群において側頭筋温 37.5 を目標体温とした。H群とGH群においては、前脳虚血と同時にアイスバッグによる急速冷却を開始し、側頭筋温を 34 まで下げた。再灌流の 30 分後に復温を開始し、再灌流 1 時間後に側頭筋温が 37.5 となるようにした。

水素ガスについては、1.3%水素ガスボンベを作成し、G群とGH群に使用した。虚血開始 10 分前から、ガスボンベの流量を 2L/分とし、セボフルラン気化器を経由させ、小動物用人工呼吸器にガスを供給した。挿管したラットに水素ガスを吸入させ、調節呼吸を行った。さらに再灌流 1 時間後まで水素ガス吸入を継続し、その後麻酔から覚醒させた。麻酔覚醒



【結論】

ラット一過性前脳虚血モデルにおいて、1.3%水素ガス吸入に脳低温療法を併用させると、水素ガス吸入単独に比べて組織学的な脳保護効果が増強する傾向が認められた。

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 1 件)

長崎 剛、真崎容子、高橋真由、堀口 剛、西川俊昭：ラット一過性前脳虚血モデルにおける低体温療法と水素ガスの併用効果. 第 20 回日本医療ガス学会 (秋田) 2016 年 10 月

〔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

長崎 剛 (NAGASAKI, Go)  
秋田大学・医学部・助教  
研究者番号：60292380

(2) 研究分担者

安部恭子 (ABE, Kyoko)  
秋田大学・医学部・助教  
研究者番号：30311575

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

西川俊昭 (NISHIKAWA, Toshiaki)  
秋田大学・医学部・教授  
研究者番号：50156048

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

( )