

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10747

研究課題名(和文) ナノバブル発生技術を用いた脊髄液酸素化による対麻痺への新たな治療法の探求

研究課題名(英文) New Treatment Concept with Nanobubble Technology for Spinal Cord Ischemic Injury

研究代表者

秋山 正年 (Akiyama, Masatoshi)

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：80526450

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ウサギ脊髄虚血再灌流モデルを用いて脊髄虚血発症後に髄腔内に挿入したカテーテルを介して過飽和酸素化人工髄液を灌流した。過飽和酸素化人工髄液を髄腔内灌流した群では、非灌流群と比較して有意に下肢神経学的症状の改善を認めた。また、脊髄組織を採取し病理学的に前角細胞数を計測すると、過飽和酸素化人工髄液灌流群で有意に正常前角細胞数が保たれていることが立証された。これらの神経学的改善のメカニズム検証のため、網羅的解析であるMicroarray解析と定量的PCR解析を施行した。これらの解析では、過飽和酸素化人工髄液灌流群では、非灌流群と比較して、炎症性サイトカイン遺伝子発現が抑制されてい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

大動脈手術後の脊髄障害は、いまだ未解決な合併症の一つであり、様々な予防法が考案されてはいるが、今なお抜本的な治療法には至っていない。また、これまでは脳脊髄液と脊髄組織間での酸素交換を指摘された報告は少なく、今回の結果は脳脊髄液と脳脊髄実質間には、酸素供給における重要なクロストークがあることが示唆された。本研究では、脊髄組織への酸素供給経路として脳脊髄液からの酸素移動がある可能性を示唆し、さらに脊髄虚血再灌流障害に対する新たな治療法へ繋がる基礎研究を遂行したと考えられた。

研究成果の概要(英文)：We adopted to use a rabbit model which spinal cord ischemic injury was induced by infrarenal abdominal aortic occlusion. After spinal cord ischemic injury was generated, oxygenated artificial cerebrospinal fluid was irrigated to intrathecal cavity. Oxygenation of intrathecal cavity improved neurological outcome. Normal anterior horn cell was histopathologically preserved by oxygenation of intrathecal cavity. Microarray and quantitative reverse transcription PCR were performed to elucidate the mechanism of neurological improvement. This analysis demonstrated that the expressions of inflammatory cytokine genes were suppressed by oxygenation of intrathecal cavity.

研究分野：心臓血管外科分野

キーワード：虚血再灌流障害 対麻痺 ナノバブル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胸部大動脈瘤に対する治療の際の重篤な合併症である脊髄障害は、様々な予防策により発症率 5 ~ 10%ほどにまで改善されてきたが、まだ完全には予防できず、一度発症すると有効な治療法は確立されておらず重い後遺症となるため、心臓血管外科領域における大きな課題のひとつである。

2. 研究の目的

本研究では、発症してしまった脊髄障害に対する改め治療法の開発を最終目標として、微細な気泡 (nanobubble) を持つ特異な性質を応用し高度に酸素化された人工髄液を作製、それを髄腔内に灌流することにより、脊髄内の低酸素状態を改善し脊髄前角細胞能の保持を試みる。

3. 研究の方法

市販されている神光寺駅に対してナノバブル発生装置を用いて過飽和酸素化人工髄液を作製した。次に、脊髄虚血再灌流モデルとして家兎を用いて腹部大動脈を血管内バルーンで 15 分遮断し、同バルーンを除去することで大動脈循環の再開を行うモデルを作製した。その後の治療的介入として、予飽和酸素化人工髄液を髄腔内に灌流する実験を行った。合計 20 羽の日本白色種の家兎を以下の群にわけた。Group S (Sham 群) は、腹部大動脈にカテーテルを挿入し 5 秒間のみバルーン拡張する群とした。Group I (Ischemia 群) は、腹大動脈を 15 分間バルーン閉塞する群とした。Group N (Non-oxygenated 群) は Group I と同様の処置から 15 分後に未処理の人工髄液を用いて髄腔内を 1 時間灌流する群とした。Group O (Oxygenated 群) は、Group I と同様の処置から 15 分後にナノバブルを用いて過飽和酸素化人工髄液を作製し髄腔内に 1 時間灌流する群とした。各処置から 48 時間後に脊髄障害に関して modified Tarlov score を用いて神経学的評価を行い、その後安楽死処置を行った。また第 2、第 3 腰椎レベルでの脊髄組織を摘出し、正常前角細胞数変化を観察するための病理学的評価、網羅的遺伝子解析目的での microarray 解析、さらに microarray 回線にて観察された変化の検証のための定量的 PCR 解析を行った。

4. 研究成果

虚血再灌流後 48 時間の時点での modified Tarlov score は、Group O (3.8 ± 0.4) では、Group I (2.0 ± 0.9) N (2.6 ± 0.5) と比較してそれぞれ有意に神経学的機能が保持されていた ($P < 0.01$; Figure 1)。また、病理学的評価において虚血領域の前角細胞数は、Group I (2.7 ± 2.7) と比較して Group N (10.2 ± 2.2)、O (10.4 ± 2.2) においてそれぞれ有意に保持されていた ($P < 0.01$)。microarray 解析において、Group S と比較して遺伝子を抽出したところ、644 の遺伝子が抽出され、これらの遺伝子を用いた functional enrichment 解析を行うと、33 の遺伝子がいずれも inflammatory response と有意な関係にある遺伝子と示された。その遺伝子の中で、interleukin 6 (IL-6) と tumor necrosis factor (TNF) の発現は、Group I と比較して Group O でシグナル値が抑制されていた。これらの遺伝子を検証するため、脊髄組織から RNA を抽出し、その RNA より cDNA を作製し、これらを用いて定量的 PCR 解析を行った。IL-6、TNF いずれも Group I と比較して Group O で発現が抑制されていた ($P < 0.05$; Figure 2)。

Figure 1

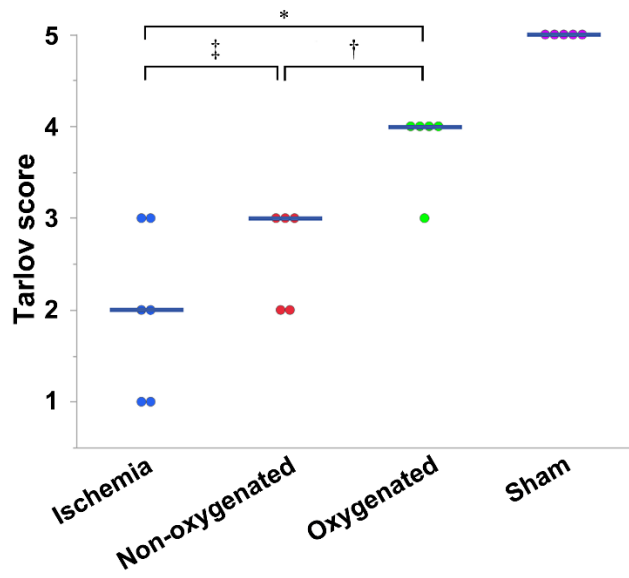
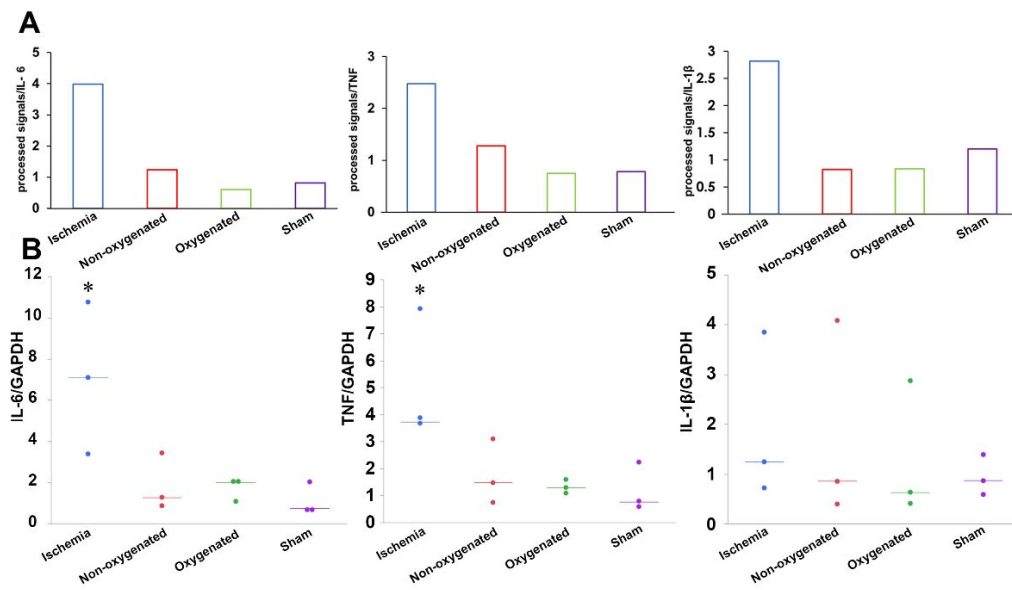


Figure 2



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Masaaki Naganuma
2. 発表標題 New Treatment Concept for Spinal Cord Ischemic Injury with Nanobubble Technology
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Session 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018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	齋木 佳克 (Saiki Yoshikatsu) (50372298)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	
研究分担者	川本 俊輔 (Kawamoto Shunsuke) (20400244)	東北大学・医学系研究科・非常勤講師 (11301)	
研究分担者	熊谷 紀一郎 (Kumagai Kiichiro) (80396564)	東北大学・大学病院・講師 (11301)	