

令和 4 年 10 月 17 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11051

研究課題名(和文) 虚血後治療としての吸入麻酔薬が永久中大脳動脈閉塞ラットの神経学的予後に与える影響

研究課題名(英文) Does post-ischemic inhalation of Isoflurane improve neurologic outcome in the rat subjected permanent middle cerebral artery occlusion?

研究代表者

谷西 秀紀(Taninishi, Hideki)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：40509428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：成年雄性ラットに中大脳動脈閉塞を負荷し、虚血開始後のイソフルラン吸入が神経学的予後に与える影響を評価した。永久虚血、一時的虚血のいずれにおいても、虚血開始15分後、2時間後からのイソフルラン投与(1時間)は虚血7日後の神経学的障害を軽減させなかった。永久虚血15分後からのイソフルラン投与は大脳皮質ペナブラ領域のTunel陽性細胞を有意に減少させ、イソフルランの持つ脳保護効果は臨床症状を改善させるほどの強さではないと考えられた。

本研究で使用した神経学的評価スケールのビデオトレーニングシステム(英語)は、英語を母国語としない日本人に対しても同様の教育効果と検者間信頼性を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臨床に近い条件下では虚血開始後(postconditioning)としてのイソフルランの投与は一時的虚血、永久虚血にかかわらず神経学的予後を改善させるほどの効果を持ち合わせてはいないと考えられた。脳梗塞患者に対し、来院時早期からのイソフルランの吸入を脳保護戦略としての治療として臨床応用することはおそらく困難である。

一方、ラット中大脳動脈閉塞モデルに対する包括的スコアリングシステムについての英語によるトレーニングは、日本人に対してもnative同様の検者間信頼性を得ることを明らかにした。この結果は非英語圏の研究者が英語圏の国際多施設共同基礎研究に参加するための大きな後押しになる。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the effect of post-ischemic isoflurane inhalation (1 hour) on neurologic outcome in the male Wistar rat subjected middle cerebral artery occlusion (MCAO). Isoflurane was started at 15 minutes and 2 hours after initiation of permanent MCAO and transient MCAO (90 minutes) like as clinical situation. Although significant decrease in Tunel positive cells in cerebral penumbra was shown when Isoflurane was started at 15 minutes after initiation of permanent MCAO, we did not detect any improvement of neurologic outcome using 48-point comprehensive neurologic scoring system. These results indicated that Isoflurane had neuroprotective effect but was not enough for improving neurologic outcome clinically.

Educational effect of the video training program of this neurologic scoring system (provided in English) was also evaluated to non-native Japanese population. We detected similar improvement of agreement of standard score and interrater reliability as native speaker.

研究分野：麻酔科学

キーワード：イソフルラン吸入 中大脳動脈閉塞ラット 神経学的予後 永久虚血 包括的スコアリングシステム 検者間信頼性

1. 研究開始当初の背景

吸入麻酔薬の治療薬としての虚血後投与 (Postconditioning) に関する研究は直近 10 年で行われるようになり、in vivo でも脳保護的に働くという報告がみられるようになってきた。しかしこれまでの報告はすべてが一時的虚血モデルであり、再灌流直後 ~ 15 分以内に吸入麻酔薬投与が開始されている。実際の臨床現場における脳梗塞は血栓溶解されない限り永久梗塞であり、脳梗塞発症から治療されるまでに少なくとも 1~2 時間がどうしても経ってしまう。さらに、脳梗塞後のもっとも重要な臨床指標は神経学的予後であり、ラットにおける Longa あるいは Rogers といった簡便な神経学的評価をそのまま臨床応用することは困難である。今後 Postconditioning あるいは虚血後の治療薬としての吸入麻酔薬の使用を臨床応用させるためには、基礎実験においても臨床で起こりえるシチュエーションに近い虚血モデルを用い、神経学的予後を包括的に評価する必要がある。

2. 研究の目的

成年および壮年の永久中大脳動脈閉塞 (Permanent Middle Cerebral Artery Occlusion: pMCAO) ラットを用いて、虚血開始後ある程度の時間を置いて吸入麻酔薬 (イソフルラン) を治療薬 (Postconditioning) として投与することが神経学的予後・組織学的予後を改善させるか検討する。また虚血後の inflammation と apoptosis のどちらに与える影響が大きいのかを明らかにする。

3. 研究の方法 (当初計画)

(1) 虚血開始後のイソフルラン投与が神経学的・組織学的予後に与える影響

pMCAO 開始 15 分後、2 時間後から 1MAC 相当 (1.5%) のイソフルラン吸入を 1 時間にわたって行い、7 日後 (短期予後) と 28 日後 (長期予後) の神経学的・組織学的予後を評価する。虚血 15 分後からのイソフルラン吸入は Positive control として、虚血 2 時間後からのイソフルラン吸入を実際の臨床現場における治療に近い形と位置付ける。

(2) 虚血開始後のイソフルラン投与が inflammation、apoptosis に与える影響

過去の Preconditioning、Postconditioning の報告ではさまざまなメカニズムが可能性としてあげられているが、inflammation と apoptosis のどちらに主として作用しているのか結論は得られていない。虚血開始 2 時間後に投与するイソフルランが炎症性サイトカインや caspase の産生に与える影響を検討する。

4. 研究成果

成年ラットにおける永久中大脳動脈閉塞モデルを用いて、虚血 15 分後からと虚血開始 2 時間後 (臨床における治療開始時期を想定) からのイソフルラン 1 時間投与が虚血 7 日後の神経学的障害に影響を与えるか評価を行った。その結果、永久閉塞モデルにおいてイソフルランは神経学的評価には影響を与えないという結果となった。この結果の原因がイソフルランの投与にかかわらず永久虚血が強いからなのか、あるいはイソフルランの効果が弱いためかを検討するために、当初の計画から一歩立ち戻って一時的中大脳動脈閉塞モデル (90 分虚血) におけるイソフルラン投与が虚血 1 週後の神経学的評価に影響を与えるか評価を行うこととした。イソフルランの投与のタイミングは永久モデルに合わせ、虚血開始後 15 分からと 2 時間後 (再灌流後 30 分後) からとし、虚血中と再灌流後のイソフルランが神経学的評価にどのような影響を与えるかを検討した。一時的虚血モデルにおいても虚血 1 週後の神経学的予後を改善させるには

至らず、ラット中大脳動脈閉塞モデルにおいて臨床に近い条件に置いた場合は、一時的虚血・永久虚血にかかわらず虚血開始後に投与したイソフルランは神経学的予後を改善させるほどの作用はもたないと考えられた。以上の結果を踏まえ、長期予後（虚血 28 日後）の評価と壮年ラット（12-14 月齢）を用いた実験は行わないこととした。

虚血開始後のイソフルランが神経学的予後を改善させなかった原因の検索を行うため、免疫組織染色にてペナンプラ領域のアポトーシスになる細胞数をカウントすることとした。永久中大脳動脈閉塞モデルにおいて、虚血開始後 15 分からと 2 時間後からイソフルランを 1 時間投与し、虚血翌日の摘出脳の大脳皮質ペナンプラにおける TUNEL 陽性細胞を群分けを知らない第 3 者によってカウントした。その結果、虚血開始 15 分後からのイソフルラン投与群においては TUNEL 陽性細胞数が有意に少なくなったが、虚血開始 2 時間後からのイソフルラン投与群では TUNEL 陽性細胞数は大きな変化は認められなかった。

以上より、ラット中大脳動脈永久虚血直後においてイソフルランはアポトーシスを抑制することによる脳保護効果を持つが、臨床的に神経学的予後を改善させるほどの作用はもたないとの結論に至った。現在英文投稿中である。

一方、本研究で用いる神経学的評価スケールについてのビデオトレーニングシステム（ビデオは英語）が英語を堪能としない日本人でも同様の教育効果を発揮するかどうかの検証もあわせて施行（UMIN ID 000030459）し、ビデオトレーニングによってほぼ native speaker と同等の教育効果と検者間信頼性が得られることが明らかになった。また、トレーニングを受けたばかりの神経学的評価初心者と熟練した検者の評価の正確性に関する研究も行い、こちらについては熟練した検者の評価の正確性のほうが高いことが判明した。これらについても現在英文投稿中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 谷西秀紀、岡崎信樹、小林求 |
| 2. 発表標題 ラット永久中大脳動脈閉塞モデルにおける虚血開始後のイソフルラン吸入は神経学的予後を改善 させるか? |
| 3. 学会等名 日本麻酔科学会 第68回学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 谷西秀紀 |
| 2. 発表標題 中大脳動脈閉塞ラットの神経学的スケールの英語ビデオトレーニングプログラムは英語を日常で 使わない検者にも有効である |
| 3. 学会等名 日本麻酔科学会 第68回学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 谷西 秀紀、Li Yaqiang、Abugri Bright Osman、大谷 晋吉、森松 博史 |
| 2. 発表標題 ラット中大脳動脈閉塞モデルの神経学的評価の信頼性の検討：評価者の経験値とブラインド化が与える影響 |
| 3. 学会等名 第26回 日本神経麻酔集中治療学会 |
| 4. 発表年 2022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 | 小林 求 (Kobayashi Motomu) (00457219) | 岡山大学・大学病院・講師 (15301) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 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 | 佐々木 俊弘 (Sasaki Toshihiro) (40509436) | 岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |