

令和 3 年 5 月 6 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18188

研究課題名（和文）選択的脳灌流体外循環下における水素ガスの脳保護効果の検討

研究課題名（英文）Hydrogen gas reduces early neural damages in selective cerebral perfusion model rats

研究代表者

中井 洋佑（Nakai, Yosuke）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・助教

研究者番号：90773979

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,900,000円

研究成果の概要（和文）：選択的脳灌流モデルラットの作成に成功した。選択的脳灌流モデルラットを作成する上においては、椎骨動脈焼却処置ラットを作成、有意差を持って椎骨動脈を焼却離断した場合に総頸動脈圧が低下することを見出した。このラットに擬似的な体外循環を確立することで、選択的脳灌流モデルラットとした。水素ガス吸入装置の設備面の問題から水素ガスの効果を検証する実験を行うことが困難であったため、今後も継続した検証が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、選択的脳灌流モデルラットの作成に成功し、選択的脳灌流体外循環を行うことで、脳の早期障害を検出し、術後脳機能障害が惹起されることを見出した。これに水素ガスの有する、酸化ストレス、炎症、細胞死、代謝に対して多面的、効果的な作用を応用することで、選択的脳灌流体外循環によって惹起される、術後せん妄、短期記憶障害、高次脳機能障害を抑制することが予想される。その結果、これまでに確立されてきた至適脳灌流法や低体温法に加えて、新たな視点からの術後QOLの向上、生命予後改善へと繋がる革新的な治療法になりうる。

研究成果の概要（英文）：We succeeded in creating a antegrade selective cerebral perfusion model rat. In preparing a antegrade selective cerebral perfusion model rat, a vertebral artery incineration-treated rat was prepared, and it was found that the common carotid artery pressure decreased when the vertebral artery was incinerated and transected. By establishing extracorporeal circulation in this rat, it was used as a antegrade selective cerebral perfusion model rat. Since it was difficult to conduct an experiment to verify the effect of hydrogen gas due to the equipment problem of the hydrogen gas inhaler, further experiment is required.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：水素ガス 選択的脳灌流

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会の進行や診断技術の発達により大動脈瘤の発見、手術は増加傾向である。高齢者においては人工心肺の使用による side effect として術後せん妄、短期記憶障害、高次脳機能障害が知られている。これらの side effect は術後 QOL の低下に大きな影響を与えており、結果として生命予後に関わるものである。特に大血管手術は冠動脈バイパス術や弁膜症手術に比べて動脈硬化の進展した症例が多く、そのため手術手技は煩雑で侵襲が大きい。したがって人工心肺装置を使用する体外循環を用いた心臓・大動脈手術における脳保護は、最も関心の集まるところである。近年、至適脳灌流法(超低体温循環停止、選択的脳灌流など)や低体温法などに多くの改良が加えられており、手術成績は向上しているが、依然として脳機能障害の発症率は高く、予防法の確立は喫緊の課題である。この病態には全身性炎症反応症候群や再灌流障害が関与していると考えられるが、不明な点が多く、病態解明のためには小動物モデルを用いた詳細な解析や検討が不可欠と考えた。

### 2. 研究の目的

水素ガスのもつ、酸化ストレス、炎症、細胞死、代謝に対する多面的、効果的な作用に着目し、術後脳機能障害の予防に繋がれると考えた。本研究の最終目標は選択的脳灌流体外循環下における水素ガスの脳保護効果を立証し、術後脳機能障害の新たな予防法を確立することであり、これらを究明することで、より質の高い医療を提供すべく本研究を立案した。

### 3. 研究の方法

(1) 動物実験計画の承認：本研究は本学医学研究科動物実験委員会の承認を受け、動物実験計画申請書 H29 M-42 に基づき実施。

(2) 選択的脳灌流モデル：片側の脳灌流モデルを次の手順で作成

8 週齢 Wistar ラットの両側椎骨動脈を焼灼離断する。それにより、椎骨動脈系による脳後方循環・大脳動脈輪を介した前方循環への影響を排除。

翌日に気管内挿管、人工呼吸下に左大腿動脈脱血、右総頸動脈送血で選択的脳灌流の体外循環を確立。

(3) 選択的脳灌流実験：

・反対側総頸動脈をクランプ下に 1 時間選択的脳灌流体外循環を実施した後、総頸動脈のクランプを解除し、脳への再灌流を行い、体外循環を終了する。

・体外循環時は動脈血圧、脈拍数、呼吸数、体温をモニタリングし、水素ガスによる循環動態の変化を観察する。また、選択的脳灌流時、再灌流時に動脈血液ガス分析を行う。

・選択的脳灌流による脳障害の解析及び水素ガスの脳保護効果の検討：前述の選択的脳灌流モデルラットを水素ガス吸入群(1.3%水素、26%酸素、72.7%窒素ガス)、非吸入群(26%酸素、74%窒素ガス)に分けて検証を行う。

(4) 評価項目：

選択的脳灌流による早期脳障害の免疫・病理組織学的解析

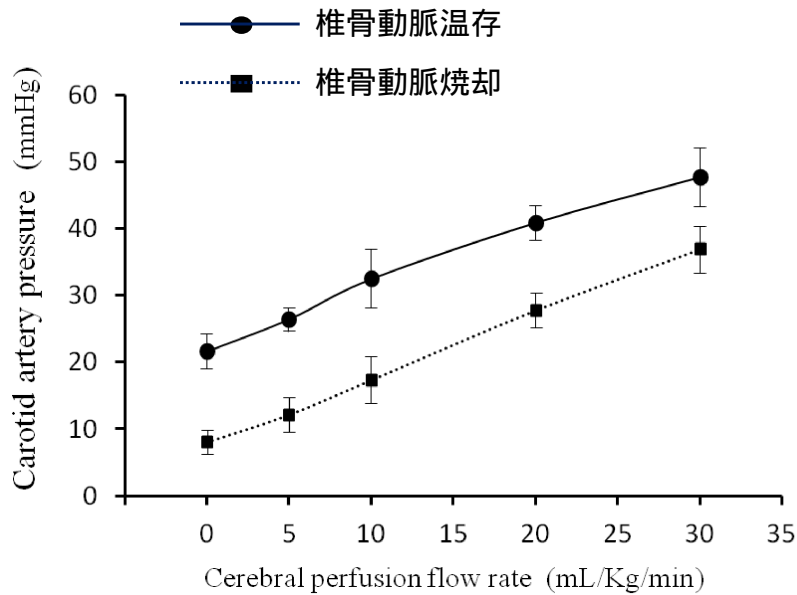
・Argyrophil-III silver 染色

選択的脳灌流を終了し、1 時間の再灌流の後にラットを安楽死させ、脳を摘出する。摘出した脳は Argyrophil-III silver 染色を施行し、超早期の免疫病理学的神経障害に出現する好銀性の dark neuron を定性解析する。好銀性 dark neuron は主に大脳皮質、海馬に出現すると考えられるため、同部位の解析を行う。

### 4. 研究成果

(1) 椎骨動脈焼却処置ラットの作成

選択的脳灌流の灌流量と総頸動脈圧の関係を測定した。椎骨動脈温存および焼却の両群のいずれも灌流量に相関して総頸動脈圧は上昇を認めた( $p < 0.001$ )。椎骨動脈焼却群では温存群に比較し、有意に総頸動脈圧を低下させた( $p < 0.001$ )。これによって、椎骨動脈系による脳後方循環・大脳動脈輪を介した前方循環への影響を排除するモデルの作成を行なった。



(2) 脳の病理組織学評価

Argyrophil-silver 染色を用い、脳機能障害を示す dark neurons(DNs)の発現を 5 段階 Grade に分類、スコア化して評価した。

Grade 1: no DNs

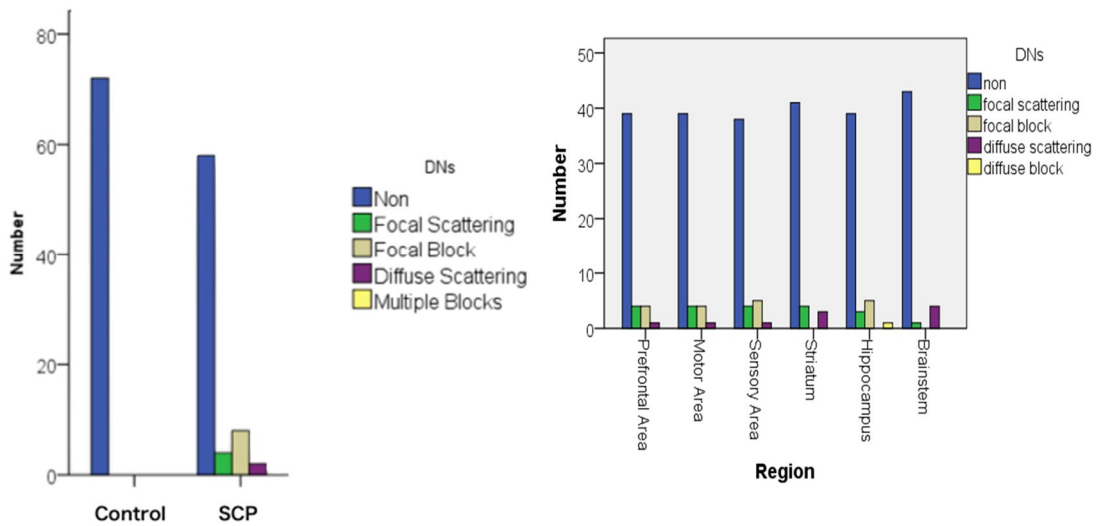
Grade 2: focal scattering

Grade 3: focal block

Grade 4: diffuse scattering

Grade 5: diffuse block

選択的脳灌流群に有意に DN の発現を認めた ( $p < 0.02$ )。発現場所に関して、有意差は認めなかったが、海馬に多く発現する傾向にあった。短期記憶障害などにつながっている可能性が示唆された。



同実験系を用いて選択的脳灌流による脳障害の解析及び水素ガスの脳保護効果の検討：前述の選択的脳灌流モデルラットを水素ガス吸入群（1.3%水素、26%酸素、72.7%窒素ガス）、非吸入群（26%酸素、74%窒素ガス）に分けて検証を行う予定であったが、水素ガス吸入装置の設備の確立が困難であり、効果の検証ができなかった。今後は同設備の確立後に更なる検証が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究協力者	三島 晃  (Mishima Akira)		
研究協力者	須田 久雄  (Suda Hisao)		
研究協力者	石田 章真  (Ishida Akimasa)		
研究協力者	佐野 元昭  (Sano Motoaki)		

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
---------	---------