

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591970

研究課題名（和文）脊髄虚血モデルにおける性差および性ステロイドの意義・役割と臨床応用

研究課題名（英文）The roles of sex hormone and gender difference for spinal cord protection in spinal cord ischemia

研究代表者

飯田 宏樹（IIDA HIROKI）

岐阜大学・医学系研究科・教授

研究者番号：30159561

研究成果の概要（和文）：

胸・腹部大動脈瘤手術の際に行う大動脈遮断・解除は脊髄循環障害による対麻痺を含む重大な中枢神経系合併症を起こす危険がある。その予防と対策は麻酔管理上重要な課題である。短時間の先行する非致死的な虚血によって、引き続いて起こる長時間の虚血に対して生体は抵抗性（虚血耐性）を示すようになる。このプレコンディショニング効果にも性差があることが報告されるようになり、性ステロイドの神経保護作用との関連が想定される。脊髄虚血におけるリモートプレコンディショニング（短時間上下肢虚血）と性ステロイド（エストロゲン）投与の脊髄保護作用を比較するために下記実験を行い、上下肢の一過性虚血負荷によるリモートプレコンディショニングによって、脊髄組織酸素分圧の減少は減弱され、その効果はATP-sensitive K channel拮抗薬であるグリベンクラミドで拮抗されること、性ステロイド（エストロゲン； 17β -エストラジオール $20\mu\text{g}$ ）を脊髄虚血前に投与することにより、リモートプレコンディショニングでみられた脊髄組織分圧の低下抑制作用と同様の効果がみられ、性ステロイドがリモートプレコンディショニングと同様の脊髄保護効果を持つ可能性が示唆された。このエストロジェンの作用がエストロゲンレセプターを介する作用か否かを検討する目的でfulvestrant（エストロゲンレセプター拮抗薬；ICI 182,780 $1\text{mg}/\text{kg}$ ）を前処置し、この脊髄保護効果がエストロゲンレセプターの活性化によることを証明した。

研究成果の概要（英文）：

We evaluated the tissue oxygen partial pressure of spinal cord (PsptO_2) following aortic cross-clamping and unclamping, and then clarified the mechanism of improvement in the PsptO_2 following spinal ischemia observed with remote ischemic preconditioning (RIPC) or intravenous estrogen in rabbits. In isoflurane anesthetized rabbits ($n=36$), we prepared for measurement of PsptO_2 following aortic cross-clamping using tissue PO_2 monitoring. In the first set of experiment, we allocated 18 animals into 3 groups, (a) control group; $n=6$, (b) RIPC group; $n=6$, (c) glibenclamide pretreatment ($0.3\text{mg}/\text{kg}$) group; $n=6$. In the second set of experiment, we also allocated 18 animals into 3 groups, (d) control group; $n=6$, (e) estrogen (17β estradiol: $20\mu\text{g}$) group; $n=6$, (f) fulvestrant pretreatment ($1\text{mg}/\text{kg}$) group; $n=6$. RIPC improved deterioration of the values in PsptO_2 at 20 min after aortic cross-clamping and 0, 2, 5 min after aortic unclamp. The improvement was diminished by pretreatment of glibenclamide. Administration of 17β estradiol improved deterioration of the values in PsptO_2 at 20 min after aortic cross-clamping and 0, 2, 5 min after aortic unclamp. The improvement was diminished by pretreatment of fulvestrant.

In conclusion, after aortic cross-clamping, the RIPC performed improves the deterioration in PsptO₂ through the KATP channel activation and 17β estradiol improves the deterioration in PsptO₂ through the estrogen receptor activation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：性ホルモン、エストロゲン、リモートプレコンディショニング

1. 研究開始当初の背景

胸・腹部大動脈瘤手術の際に行う大動脈遮断・解除は脊髄循環障害による対麻痺を含む重大な中枢神経系合併症を起こす危険がある。その予防と対策は麻酔管理上重要な課題である。大動脈遮断時には脊髄は虚血に陥る危険性があり、一旦遮断解除されると、遮断部以下で産生された生理学的活性物質を多く含む血液で虚血後の再灌流がおこる。これに対して脊髄の還流圧を保ち脊髄血流を維持するために、脳脊髄圧のモニタリングと制御（脳脊髄液ドレナージ）・大動脈遮断遠位側の灌流・重要な根動脈の確認と再建を行っている。また、それに加えて薬理的脊髄保護（ナロキソン・ステロイド・NMDA受容体拮抗薬・Na⁺ channel blocker等）や低体温も併用されるが、未だ解決されない臨床的な問題である。

一方、strokeは女性よりも男性の方が発生頻度が高く、閉経前の女性では稀であることが知られており、この差は年齢が高齢になるほど少なくなる。神経学的予後においても同様の性差がみられる。その機序として女性ホルモン（エストロゲン）の関与が示唆されており、種々の神経疾患に対する改善効果が期待されている。エストロゲンの作用機序に関して、血流改善を介する作用や、genomic actionとしてのタンパク質の転写を制御して神経保護（bc1-2とのinteraction等）、non-genomic actionとしての作用（抗酸化作用・growth factorを介しての情報伝達修飾作用・

Glutamate、GABAを介する作用）が示唆されているが、完全に解明されていない。神経保護作用の性差（性ホルモンの効果の差）に関して、アンドロゲンは虚血性脳障害において悪化因子として知られている反面（Cheng J et al. J CBFM 2007）、内頸動脈内膜摘除術や冠動脈再建術では周術期のstrokeのリスクが男性より女性の方が高いことが知られているが、この原因の一つにテストステロンの神経保護増強効果が想定されており（Kitano H et al. J CBFM 2007）、二面性を有している。これらの性ホルモンの神経保護作用は恐らく脊髄虚血の状況でも期待される。

加えて、短時間の先行する非致死的な虚血によって、引き続いて起こる長時間の虚血に対して生体は抵抗性（虚血耐性）を示すが、虚血以外にも薬物的に同様の効果も証明されており（薬理的プレコンディショニング）、このプレコンディショニングと呼ばれる現象は脊髄を初めとする中枢神経でも認められ、従来脊髄保護に加えて臨床への導入が期待されている。

2. 研究の目的

このプレコンディショニング効果にも性差があることが報告されるようになり、上記の性ステロイドの神経保護作用との関連が想定される。これらを組み合わせることによって、安全に大動脈手術時の脊髄保護を行うことが可能であるか検討すること、またその効果を増強するあるいは減弱する因子を解明し、より強い臓器保護効果を発揮するため

に必要な因子を明らかにすること、性ステロイドとプレコンディショニングの増強効果発現機序を解明し、特に副作用や手術の緊急性を考慮して、臨床的観点から安全で有効な脊髄保護法を確立することを本研究の目的とする。

また、性ホルモンに関しては、その副作用（血栓症・腫瘍の顕性化・精神症状等）が長期投与に伴うものが主であること、対象疾患患者（大動脈遮断を有する手術患者）の臨床的特徴である緊急性から考えて、適切な種類・用量の性ホルモンを単回あるいは短期間投与することによる脊髄保護効果を明らかにし、その保護効果の増強因子・減弱因子（薬理的プレコンディショニングの併用も含めて）を併せて検討することによって明瞭な脊髄保護作用を有するレベルまで高めることは臨床上非常に有意義である。

3. 研究の方法

当初は、実験モデルとして Sprague-Dawley ラットを用いることを計画した。脊髄虚血ラットで、以後の神経学的・組織学的評価を行う予定であったが、実験系の確立に難渋し下記モデルに変更した。

日本白色家兎（オス：2.5-3.5kg）を対象とし、プロポフォール（プロポフォール）の静脈内投与で麻酔を開始し（1.8mg/kg/min;最初の30分）、以後プロポフォール（1.2mg/kg/min）で麻酔を維持する。気管挿管後、左上腕動脈、左大腿動・静脈にカニューレ挿入し、直接動脈圧測定用、血液分析用採血路、薬物および輸液投与路とする。酸素加空気にて（arterial oxygen content:14~15vol%）動物用人工呼吸器を用いて終末呼気二酸化炭素分圧を35~40mmHgに維持するように調節呼吸を行う。直腸温をブランケットにて38.0~39.0°Cに維持する。第12肋骨のレベルで脊椎と平行に腰背部に局所麻酔下に切開を加え、経後腹膜に大動脈を腎動脈下で剥離し、左腎動脈直下にテーピングを行い必要に応じて大動脈の遮断・解除によって脊髄虚血・再灌流が作成可能な準備を行う。リモートプレコンディショニング刺激を誘導するために右下肢にターニケットを装着し短時間の虚血（ドップラ血流計で下肢虚血を確認）と再灌流を繰り返さず準備をする。

上記動物モデルを作成の後、右下肢の短時間虚血をターニケットで誘導（250mmHg）する。5分間虚血・5分間再還流を

4回繰り返す。前処置30分後20分間の大動脈遮断し（左腎動脈直下のテーピングを占める；虚血の確認をドップラ血流計で行う）、テーピング抜去によって再灌流を行う。

エストロゲン単回投与群（エストロゲン；17β-エストラジオール 20μg）を用いて、前記の実験と同様に、大動脈遮断による脊髄虚血負荷を行う。

ファイバーオプティクス酸素センサーおよび血流センサーによる解析のために、腰部脊髄に組織マイクロプローベを脊髄表面から穿刺挿入し、laser Doppler flowmetryを用いて脊髄血流量（rSCBF）および脊髄組織酸素分圧（PspO₂）を大動脈遮断による脊髄虚血後再灌流60分後まで持続的に測定し、臓器保護効果とrSCBFおよびPspO₂の相関を検討する。性ホルモンの組み合わせに関して下記受容体拮抗薬を投与することによってその効果の拮抗を確認し、確認された保護効果が受容体を介する神経保護効果であるのか、あるいはそれ以外の受容体を介さない効果であるのか評価するために、エストロゲン受容体拮抗薬（1mg/kg；ICI 181,780）を用いる。

4. 研究成果

脊髄虚血におけるリモートプレコンディショニング（短時間上下肢虚血）と性ステロイド（エストロゲン）投与の脊髄保護作用を比較するために下記実験を行い、上下肢の一過性虚血負荷によるリモートプレコンディショニングによって、脊髄組織酸素分圧の減少は減弱され、その効果はATP-sensitive K channel拮抗薬であるグリベンクラミドで拮抗されること、性ステロイド（エストロゲン；17β-エストラジオール 20μg）を脊髄虚血前に投与することにより、リモートプレコンディショニングでみられた脊髄組織分圧の低下抑制作用と同様の効果がみられ、性ステロイドがリモートプレコンディショニングと同様の脊髄保護効果を持つ可能性が示唆された。このエストロゲンの作用がエストロゲンレセプターを介する作用か否かを検討する目的でfulvestrant（エストロゲンレセプター拮抗薬；ICI 182,780 1mg/kg）を前処置し、この脊髄保護効果がエストロゲンレセプターの活性化によることを証明した。そこで、この作用が他の拮抗薬（ATP-sensitive K channel拮抗薬であるグリベンクラミド）で拮抗されるか確認したが、残念ながら明確な拮抗作用は確認できなかった。

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 25 件)

1. Minami K, Iida M, Iida H. Case report: central venous catheterization via internal jugular vein with associated formation of perioperative venous thrombosis during surgery in the prone position. *J Anesth*. [Epub ahead of print], 2012 (査読有)
2. 上松友季, 中村好美, 天野雄平, 田辺久美子, 飯田宏樹. うつ病患者に対する修正型電気摩擦療法による脳血流の変化. *麻酔*. 61, 126-129, 2012 (査読有)
3. 山田忠則, 鬼頭和裕, 太田宗一郎, 大畠博人, 飯田宏樹. プロタミン投与後にアナフィラキシー様ショックを起こした症例. *臨床麻酔*. 36, 537-538, 2012 (査読有)
4. 長瀬清, 飯田宏樹. 術中に用いるオピオイドの種類によるベクロニウム使用料の比較. *麻酔*. 61, 291-298, 2012 (査読有)
5. Iida H, Iida M, Takenaka M. Anesthesia and cerebrospinal microcirculation: assessment using cranial- and spinal-window techniques. *J Anesth*. 26, 143-146, 2012 (査読有)
6. 松本茂美, 飯田宏樹. 慢性痛に対するオピオイド オピオイド治療の適応と患者選択. *Anet*. 16(1), 3-6, 2012 (査読有)
7. 飯田美紀, 飯田宏樹. 全身麻酔下での人工膝関節置換術—フェンタニル持続静注を選択—呼吸抑制にも注意. *LiSA*. 18, 258-261, 2011 (査読有)
8. 飯田宏樹, 加藤真有美. 周術期禁煙. *臨床麻酔*. 35, 1095-1103, 2011 (査読有)
9. Tanabe K, Kozawa O, Iida H. Midazolam suppresses interleukin- β -induced interleukin-6 release from rat glial cells. *J Neuroinflammation*. 8, 68, 2011 (査読有)
10. 飯田宏樹. 脊髄保護のための麻酔法. *Anet*. 15, 22-26, 2011 (査読有)
11. 加藤真有美, 山田裕子, 熊澤昌彦, 竹中元康, 飯田宏樹. ハンチントン舞踊病患者に対するスガマデクスの使用経験. *臨床麻酔*. 35, 857-859, 2011 (査読有)
12. 飯田宏樹, 山口忍. 慢性疼痛に対する新しい薬物—新しい薬物を含む治療法選択の考え方—. *臨床整形外科*. 46, 311-316, 2011 (査読有)
13. 飯田宏樹. 脳脊髄循環からみた脊椎外科・大血管外科における脊髄保護. *日臨麻会誌*. 31, 193-201, 2011 (査読有)
14. 飯田宏樹. 安全面と効率面からみた難治性疼痛治療. *ペインクリニック*. 32, 317-318, 2011 (査読有)
15. Yamaguchi S, Iida H, Sumi K, Takenaka M, Yoshimura N, Dohi S. Preliminary study of the efficacy of radiofrequency lesions of stellate ganglion in chronic pain patients. *Pain Med*. 11, 142-144, 2010 (査読有)
16. 飯田宏樹. 喫煙. *麻酔*. 59, 838-843, 2010 (査読有)
17. 福岡尚和, 飯田宏樹. 拘束性肺疾患. *麻酔*. 59, 833-837, 2010 (査読有)
18. Iida H, Iida M, Takenaka M, Fukuoka N, Dohi S. Comparative effects of cilostazol and aspirin on the impairment of endothelium-dependent cerebral vasodilation caused by acute cigarette smoking in rats. *J Thromb Thrombolys* 29, 483-488, 2010 (査読有)
19. Tanabe K, Matsushima-Nishiwaki R, Yamaguchi S, Iida H, Dohi S, Kozawa O. Mechanisms of tumor necrosis factor- α -induced interleukin-6 synthesis in glioma cells. *J Neuroinflamm*. 7, 16, 2010 (査読有)
20. 早川洋子, 飯田宏樹, 鷺見和行, 田口佳広, 山口忍, 吉村文貴, 竹中元康, 土肥修司. 交感神経ブロックおよびナトリウムチャンネル遮断薬が著効し、長期経過で運動障害・骨脱灰が回復したCRPSの1症例. *ペインクリニック*. 31, 509-511, 2010 (査読有)
21. Fukuoka N, Iida H, Akamatsu S, Nagase K, Iwata H, Dohi S. The association between the initial end-tidal carbon dioxide difference and the lowest arterial oxygen tension value obtained during one-lung anesthesia with propofol or sevoflurane. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009; 23: 775-779 (査読有)
22. Iida H, Sumi K, Yamaguchi S, Takenaka M, Dohi S. A case of cervicogenic ipsilateral shoulder pain after thoracic surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009; 23: 853-854 (査読有)
23. Minami K, Iida H, Sakakibara I, Dohi S. A Case of Cesarean Section with a Preoperatively Undiagnosed Placenta Percreta. *Anesthesia and Resuscitation* 2009; 45: 69-70 (査読有)
24. Yamaguchi S, Tanabe K, Takai S,

Matsushima-Nishiwaki R, Adachi S, Iida H, Kozawa O, Dohi S. Involvement of Rho-kinase in tumor necrosis factor- α -induced interleukin-6 release from C6 glioma cells. *Neurochemistry International* 2009; 55: 438-445 (査読有)

25. Tanahashi S, Iida H, Dohi S, Oda A, Osawa Y, Yamaguchi S. Comparative effects of ultra-short-acting β 1-blockers on voltage-gated tetrodotoxin-resistant Na⁺ channels in rat sensory neurons. *Eur J Anaesthesiol* 2009; 26: 196-200 (査読有)

[学会発表] (計 10 件)

1. Iwata K, Iida M, Fukuoka N, Tanabe K, Takenaka M, Iida H. Nicorandil prevents the pial arteriolar endothelium from oxidative stress induced by smoking in rats. *American Society of Anesthesiologists, Chicago, October 19, 2011*
2. Yoshimura N, Takenaka M, Yamaguchi S, Miyamoto M, Matsumoto S, Iida H. Efficiency of facet rhizotomy for patients with recurrent lumbar pain after a spinal fusion. *American Society of Anesthesiologists 2011, Chicago, October 16, 2011*
3. Sugiyama Y, Tanabe K, Iida H. Effects of intravenous anesthetics and sedatives on mucin production in cultured human airway epithelial cells. *American Society of Anesthesiologists, Chicago, October 16, 2011*
4. Iida M, Iida H, Takenaka M. Mechanisms underlying endothelial dysfunction by acute cigarette smoking in rat. 26th *International Symposium on Cerebral Blood Flow Metabolism and Function, Barcelona, May 25-28, 2011*
5. Minami K, Takada M, Murata T, Inoue C, Sudani T, Iida H. Intravenous Flurbiprofen Prevents Mesenteric Traction Syndrome - Evaluation with FloTrac[®] Sensor. *American Society of Anesthesiologists, San Diego, October 16-20, 2010*
6. Takenaka M, Iida M, Iida H. Preconditioning with estrogen improves the deterioration of the tissue oxygen partial pressure of spinal cord after Aortic Cross-Clamping. *American Society of Anesthesiologists, San Diego, October 16-20, 2010*
7. Iida M, Iida H, Takenaka M, Tanabe K. The effects of varenicline associated with acute smoking on the endothelial function in cerebral vessels in rats. *American Society of Anesthesiologists, San Diego, October 16-20, 2010*
8. Sugiyama Y, Iida H, Dohi S: Diabetes-Induced Tactile Allodynia Involves Activation of Adenylyl Cyclase in Rat Sensory Neurons. *American Society of Anesthesiologists, New Orleans October 17, 2009*
9. Iida M, Iida H, Tanenaka M, Fukuoka N, Dohi S: Effects of Cilostazol and Aspirin on the Cerebral Endothelial Dysfunction Caused by Smoking in Rats. *American Society of Anesthesiologists, New Orleans October 17, 2009*
10. Takenaka M, Iida H, Iida M, Dohi S: RIPC Improves the Deterioration of PsptO₂ after Aortic Cross-Clamp through K_{-ATP} Channel Activation. *American Society of Anesthesiologists, New Orleans October 18, 2009*

[図書] (計 4 件)

1. 飯田宏樹, 福井弥己郎, 伊達久, 安部洋一郎編. よくわかる神経ブロック法, 中外医学社, 東京, 2011
2. 飯田宏樹: 森田浩之編. いきなり名医! 見わけが肝心、不定愁訴—訴えの見極め方と治療の極意—. 分担執筆, 日本医事新報社, 東京, 2010
3. 飯田宏樹: 高崎真弓, 河本昌志, 川真田樹人, 岡本博嗣編. 麻酔科トラブルシューティング A to Z. 分担執筆, (株)文光堂, 東京, 2010
4. 山口忍, 飯田宏樹: 稲田英一編. 痛みの評価. 麻酔科研修ノート. 430-432, (株)診断と治療社, 東京, 2010

[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

飯田 宏樹 (IIDA HIROKI)
岐阜大学・医学系研究科・教授
研究者番号：30159561

(2) 研究分担者

飯田 真美 (IIDA MAMI)
岐阜大学・医学系研究科・非常勤講師
研究者番号：80350859

(3) 連携研究者

()
研究者番号：