

機関番号：11401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791430

研究課題名 (和文) $\alpha 2$ アゴニストの虚血後投与—低体温併用療法による脳保護作用の研究

研究課題名 (英文) The neuroprotective effects of a combination of post-ischemic dexmedetomidine and hypothermia after transient forebrain ischemia in rats

研究代表者

佐藤 浩司 (SATO KOJI)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号：80333938

研究成果の概要 (和文)：ラット一過性前脳虚血モデルにおいて、 $\alpha 2$ アゴニストであるデクスメデトミジンの虚血後投与と低体温との併用療法は各単独療法と比べ、虚血3日後の脳保護増強効果を認めなかった。デクスメデトミジンの虚血前投与と低体温併用療法では各単独療法と比べ、虚血4週後の海馬 CA1 細胞に対する脳保護増強効果が認められた。

研究成果の概要 (英文)：The combination of post-ischemic dexmedetomidine and hypothermia provided comparable short-term neuroprotection with either of the two therapies alone after transient forebrain ischemia in rats. The combination of pre-ischemic dexmedetomidine and hypothermia improved long-term histological outcome of hippocampal CA1 neurons compared with either of two therapies alone.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：麻酔科学・蘇生学

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：一過性前脳虚血、デクスメデトミジン、虚血後投与、低体温、短期予後、長期予後

1. 研究開始当初の背景

(1) 虚血性脳障害の主な機序として、興奮性アミノ酸の細胞外への遊離、NMDA 受容体刺激による一酸化窒素 (NO) の異常産生、フリーラジカル (superoxide) の産生、一酸化窒素と superoxide の結合物 (peroxynitrite) の産生、脳内ノルエピネフリン濃度の上昇、およびカルシウムイオンの細胞内流入などがある (J Appl Physiol 1991)。

(2) $\alpha 2$ アドレナリン受容体作動薬 ($\alpha 2$ アゴニ

スト) は虚血に伴う脳内ノルエピネフリン濃度の上昇を抑制し (Anesthesiology 1997)、一方、低体温は脳代謝と興奮性アミノ酸などの遊離抑制によって脳保護作用を示すとされている (Anesthesiology 1995、Brain Res 2000)。しかし、これらの脳保護効果を示す薬物の単独投与または低体温療法のみでは、必ずしも十分な効果は認められていないのが現状である。

(3) 研究代表者は以前よりラット一過性前脳虚血モデルを用いて、デクスメデトミジンと低体

温療法の併用効果を研究してきた。3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のデクスメドミジンは低体温療法の脳保護効果を増強しなかった (Akita J Med 2007) が、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のデクスメドミジンは、デクスメドミジンまたは低体温の単独療法に比し、併用療法では虚血後早期の神経学的検査において障害が軽減することが示された。しかしこの研究ではデクスメドミジンの投与は脳虚血前であった。臨床現場での脳虚血は予期せず起こることも多く、脳虚血後にデクスメドミジンを投与した際の脳保護効果の検討も必要と考えられる。

2. 研究の目的

脳虚血後にデクスメドミジンを投与し、デクスメドミジンと低体温併用療法の脳保護効果について短期的予後と長期的予後において検討する。

3. 研究の方法

(1) 短期予後

雄性 Sprague-Dawley ラット (300~400 g) 32 匹を用いて、ハロタン麻酔・調節呼吸を行う。

- ・尾動脈 (血圧測定・採血用)、右大腿静脈 (輸液・薬物投与)、右頸静脈 (脱血用) にカテーテルを留置する。
- ・頭頂部に脳血流測定用プローベを装着する。両側側頭筋に脳波電極、片側側頭筋および直腸に体温プローベを挿入する。
- ・処置後ハロタン投与を中止し、70% 亜酸化窒素とフェンタニルの 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回投与および 25 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の持続投与で麻酔を維持する。
- ・対照 (生食、側頭筋温 37.5°C) (C) 群、デクスメドミジン 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (37.5°C) (D) 群、低体温 (生食、35°C) (H) 群、デクスメドミジン 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (35°C) (DH) 群の 4 群に分ける。
- ・体温調節後、脱血によって平均動脈圧を 40 mmHg に維持し、右総頸動脈閉塞により右側の前脳虚血状態とする。
- ・20 分後、頸動脈閉塞解除と返血によって脳の再灌流を行う。再灌流 10 分後、生食またはデクスメドミジンの腹腔内投与を行う。復温は再灌流 60 分後から開始する。カテーテルを抜去し創を閉じ、ラットを麻酔から覚醒させる。
- ・虚血 24 時間、48 時間、72 時間後に神経学的検査 (Hoffmann 1991) を行う。神経学的検査は意識状態 (0-4 点)、プラットフォームに垂らし

たロープをつかめるか (0-4 点)、四肢の緊張 (0-1 点)、歩行状態 (0-4 点)、網でできたスクリーンにつかまっていられるか (0-3 点)、痛みに対する反応 (0-1 点) で、計 0 点を障害なし、17 点を最重症とする。前脳虚血 3 日後にペントバルビタール麻酔下でパラホルムアルデヒドにて脳灌流固定後、脳冠状切片にヘマトキシリン染色を行う。光学顕微鏡的に右海馬 CA1 細胞の生存率、尾状核レベルでの右大脳皮質の障害の程度を比較する。大脳皮質の障害の程度は 0: 死亡細胞なし、1: 死亡細胞が散見、2: 小梗塞巣が尾状核と大脳皮質に存在、3: 尾状核の 50% を含む大梗塞巣が存在、4: 大脳半球の少なくとも 50% が梗塞、5: 大脳半球すべてが梗塞、の 6 段階で評価する。統計は、神経学的検査と大脳皮質の障害の程度については Steel-Dwass 検定、右海馬 CA1 細胞については分散分析を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとする。

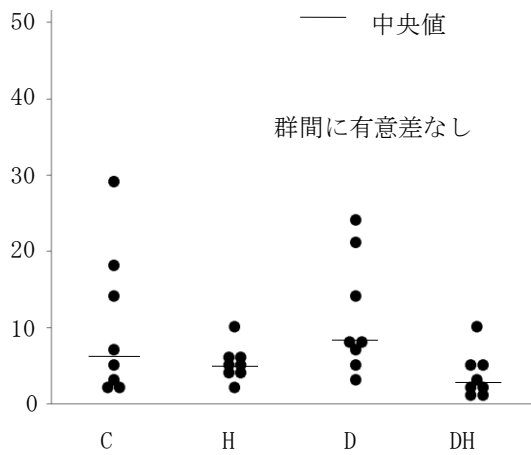
(2) 長期予後

デクスメドミジンの虚血後投与は短期予後において脳保護効果が認められなかった。短期予後で併用効果が認められなければ長期予後においても認められない可能性が高い。したがって、以前の検討で神経学的に短期的併用効果が認められたデクスメドミジン虚血前投与と低体温療法との併用効果の長期的予後の評価を行う。(1) と同様に前脳虚血状態を作成する。デクスメドミジンまたは生理食塩水の腹腔内投与 30 分後に脱血により平均動脈圧を 40 mmHg に維持し、右総頸動脈閉塞により右側前脳虚血状態とする。20 分後、頸動脈閉塞解除と返血により脳の再灌流を行う。虚血 1、3、7、14、21、28 日後に (1) と同様の神経学的検査を行う。虚血 28 日後に脳灌流固定後、脳冠状切片にヘマトキシリン染色を行い、光学顕微鏡的に右海馬 CA1 細胞の生存数、右大脳皮質の虚血脳障害の程度を比較する。統計は (1) と同様の手法を用いる。

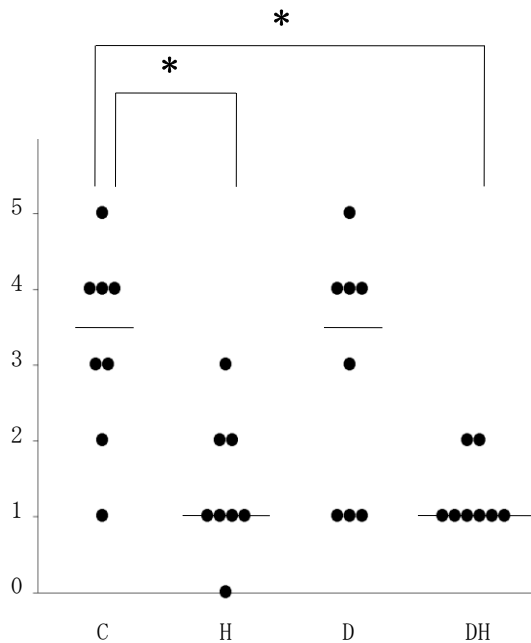
4. 研究成果

(1) 短期予後

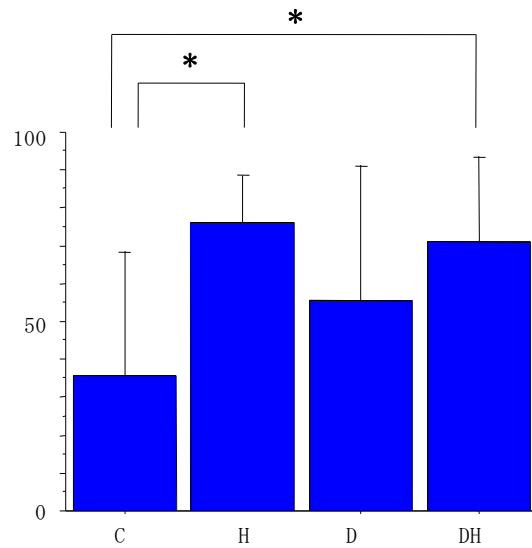
① 神経学的検査の 3 日間合計において、各群に有意差は認められなかった。



②右大脳皮質の組織学的評価ではH群とDH群がC群に比してそれぞれ有意に障害が少なかった ($p < 0.05$)。



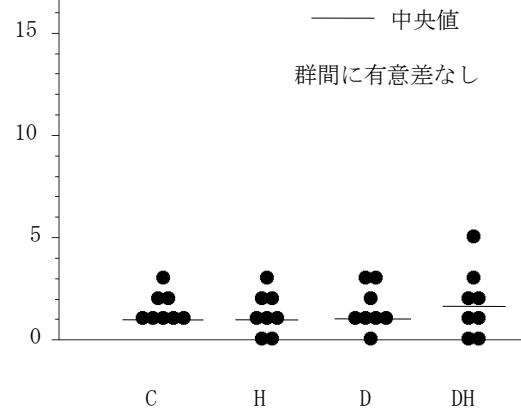
③右海馬 CA1 細胞の生存率 (%) は、H 群と DH 群が C 群と比してそれぞれ有意に大きかった ($p < 0.05$)。



①～③をまとめると、ラット一過性前脳虚血モデルにおいて、デクスメデトミジン虚血後投与による短期的脳保護効果は認められなかった。デクスメデトミジン虚血後投与と低体温との併用療法でも低体温療法単独と同等の効果が認められた。

(2) 長期予後

① 虚血 28 日後の神経学的検査において、各群に有意差は認められなかった。



②右大脳皮質の組織学的評価ではH群はC群に比して有意に障害が少なく、DH群はC群、D群に比して有意に障害が少なかった ($p < 0.05$)。

