

平成 21 年 5 月 1 日現在

研究種目：基盤研究 C(2)

研究期間：2005～2008

課題番号：17591649

研究課題名（和文） 脊髄虚血モデルにおける灰白質及び白質傷害の長期的評価

研究課題名（英文） Long-term evaluation of gray and white matter injury in models of spinal cord ischemia.

研究代表者 川口 昌彦 (KAWAGUCHI MASAHIKO)

奈良県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号 60275328

研究成果の概要：

脊髄虚血モデルを用い、軽度低体温や各種薬剤の脊髄虚血後の灰白質傷害と白質傷害への影響について検討した。脊髄虚血後の灰白質傷害と白質傷害はその発症様式や時間的経過が異なることが明らかになり、各種の治療的手段の効果についても異なることが明らかになった。また、灰白質傷害と白質傷害の回復過程の変化を明らかにすることで、機能回復のための治療戦略の可能性を示唆した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	900,000	0	900,000
2006 年度	800,000	0	800,000
2007 年度	800,000	240,000	1,040,000
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

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：脊髄虚血、白質、灰白質、神経細胞死、ラット

1. 研究開始当初の背景

脳虚血後の神経傷害としてこれまで灰白質傷害のみが取りあげられたきたが、近年、白質傷害も存在することがあきらかになり、その治療戦略として灰白質傷害と白質傷害の両面を視野に入れた治療戦略が立てられるようになってきた。しかし、脊髄虚血においては虚血後の灰白質傷害と白質傷害の関連性や時間的経過、また治療による反応性などについてのデータは乏しいのが現状である。また、時間の経過とともにその傷害の程度は

変化するため、長期の観察が必要であると考
えられている。したがって、脊髄虚血後の神
経傷害軽減に向けては、灰白質傷害と白質傷
害両面の長期的観察が、その治療的戦略の検
討にとって重要な課題と考える。

2. 研究の目的

脊髄虚血モデルを用いて、灰白質傷害と白質
傷害の発症の状態を評価するとともに、軽度
低体温や各種薬剤の灰白質傷害と白質傷害
への影響について長期的な検討を行うこと

を目的とする。

3. 研究の方法

ラット脊髄虚血モデルを用い、脊髄虚血後の灰白質傷害と白質傷害に及ぼす影響について評価するとともに、軽度低体温や各種薬剤（デルタオピオイド、ミノサイクリン）の影響を検討する。

ラット脊髄虚血は2Frのフォガティカテーテルを大腿動脈から左鎖骨下動脈分岐直下まで挿入し、同時に脱血により頸動脈圧を40mmHgになるように調節する。末梢側の血圧は尾動脈に挿入したカテーテルのより連続的に測定する。中枢側の血圧調節により大動脈遮断時の側副血流を一定にすることができると考えられている。また、末梢側の圧測定により、大動脈遮断が有効に行われていることを確認する。虚血前後の体温は37.5–38°Cに維持する。

運動機能評価についてBasso-Beattie-Bresnahan (BBB) スコアを用いて検討する。本スコアは完全麻痺で0点、正常で21点と評価される。灰白質傷害は脊髄前角部の正常神経細胞数を計測した。また、白質傷害は、白質における空砲化率を計測した。また、機能的評価を行うため、amyloid precursor protein (APP)の免疫染色を用いて評価した。

研究1：ラット脊髄虚血モデルを用いて、脊髄虚血後の灰白質傷害と白質傷害の程度を評価した。評価は虚血後24時間とし、灰白質傷害と白質傷害の関連性についても検討した。

研究2：本研究のみ、ウサギ脊髄虚血モデルを用いて脊髄虚血後の灰白質傷害と白質傷害を評価した。脊髄虚血は腎動脈分岐部直下での大動脈遮断により作成した。低血圧の併用はおこなわず、虚血時間は16分とした。脊髄虚血後、24時間、4日、14日目に正常神経細胞数、空砲化率、後肢運動機能を評価した。

研究3：デルタオピオイドのアゴニストであるSNC80がラット脊髄虚血後の灰白質傷害と白質傷害に及ぼす影響を、正常体温下と軽度低体温下で検討した(35°C)。脊髄虚血は常温では10分間、軽度低体温では22分間施行し、SNC80は脊髄虚血の15分前にくも膜下投与を行った。

研究4：軽度低体温の脊髄虚血後の灰白質傷害と白質傷害への影響を長期的に観察した。虚血時間は15分とし、38°C、35°C、32°Cの体温管理での脊髄傷害と運動機能を評価した。評価は、虚血2日目と28日目に行った。

研究5：脊髄虚血に対するミノサイクリンの脊髄保護効果について検討した。ミノサイクリンは3日間連続、皮下投与しその後脊髄虚血を施行した。虚血3日後に灰白質傷害と白質傷害、BBBスコアを評価した。

4. 研究成果

研究1：12分及び15分の脊髄虚血を施行する、虚血時間の延長とともに増悪する灰白質傷害と白質傷害を認めた。BBBスコアと正常神経細胞数は有意に相関しており、正常神経細胞数と空砲化率も有意に相関していた。空砲化を認める領域にはAPPの免疫反応物質の蓄積も認められ、軸索の機能的障害も発生していることが示された。本研究結果は、[Anesth Analg 2005;100:847-854](#)に歳々されている。

研究2：後肢運動機能は時間経過とともに悪化し、14日目に最低値となった。正常神経細胞数は24時間目より低値となり、その細胞数は14日まで変化なかった。空砲化率は、24時間では明らかではなかったが、4日、14日では有意に上昇した。また、4日、14日ではAPPの蓄積も認められた。本研究結果より、白質傷害は時間経過により、変化する可能性があることが示唆された。本研究結果は、[Anesthesiology 2006;105:305-312](#)に掲載された。

研究3：正常体温下では、くも膜下投与されたSNC80は運動機能を有意に改善し、正常神経細胞数を有意に増加させた。白質傷害については、正常体温下でも軽度低体温下でも、SNC80は空砲化率を有意に低下させ、白質傷害軽減作用を有することが示唆された。本研究結果は、[J Anesth 2008;22:32-37](#)に掲載された。

研究4：脊髄虚血後の運動機能は、軽度低体温で良好でその効果は28日間持続した。32°Cの低体温群では28日目でも38°Cと比較し、正常神経細胞数が有意に多かった。白質傷害については、32°Cと35°Cのいずれの群でも、38°C群

と比較し、空砲化率が有意に低かった。このことより、軽度低体温の脊髄保護効果は長期的に持続することが示唆された。2007年日本麻酔科学会にて報告した。現在投稿中となっている。

研究5：

ミノサイクリン群では、BBBスコアが有意に高く、正常神経細胞数が有意に高く、空砲化率が有意に低かった。このことより、前投与されたミノサイクリンには脳保護採用があることが示唆された。本研究結果は、2009年日本麻酔科学会総会で発表した。

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 3 件)

- 1) Kurita N, Kawaguchi M, Horiuchi T, Inoue S, Sakamoto T, Nakamura M, Konishi N, Furuya H. An evaluation of white matter injury after spinal cord ischemia in rats: A comparison with gray matter injury. *Anesth Analg* 2005;100:847-854
- 2) Kurita N, Kawaguchi M, Kakimoto M, Yamamoto Y, Inoue S, Nakamura M, Konishi N, Patel PM, Furuya H. Reevaluation of gray and white matter injury after spinal cord ischemia in rabbits. *Anesthesiology* 2006;105:305-312
- 3) Horiuchi T, Kawaguchi M, Kurita N, Sakamoto T, Nakamura M, Konishi N, Furuya H. Effects of delta-opioid agonist SNC80 on white matter injury following spinal cord ischemia in normothermic and mildly hypothermic rats. *J Anesth* 2008;22:32-37

[学会発表] (計 7 件)

- 1) Kurita N, Kawaguchi M, Horiuchi T, Inoue S, Furuya H: Evaluation of white matter injury after spinal cord ischemia in rats. A comparison with gray matter injury and hind-limb motor function. American Society of Anesthesiologists, 2004 annual meeting, Las Vegas 2004
- 2) Kurita N, Kawaguchi M, Kakimoto M, Inoue S, Furuya H: Long Term

Assessment of White Matter Injury after Spinal Cord Ischemia in Rabbits. Long Term Assessment of White Matter Injury after Spinal Cord Ischemia in Rabbits. American Society of Anesthesiologists, 2005 annual meeting, Atlanta

- 3) 栗田直子, 川口昌彦, 垣本めいこ, 山本百合, 井上聡己, 古家 仁: 家兔脊髄虚血モデルにおける白質傷害の長期的検討. 第52回日本麻酔科学会総会. 神戸 2005
- 4) 川口昌彦, 古家 仁: 脳脊髄虚血後の白質傷害. 第9回日本神経麻酔集中治療研究会, 長崎 2005
- 5) 堀内俊孝, 川口昌彦, 井上聡己, 栗田直子, 坂本尚典, 中村光利, 小西 登, 古家 仁: δ -opioid agonist SNC80 は軽度低体温の脊髄保護効果を増強するか? 第9回日本神経麻酔集中治療研究会, 長崎 2005
- 6) 堀内俊孝, 川口昌彦, 栗田直子, 井上聡己, 古家 仁: ラット脊髄虚血後の灰白質及び白質傷害に対する軽度低体温の長期的効果の検討. 日本麻酔科学会 第54回学術集会, 札幌 2007
- 7) 竹田 政史, 熊取谷知征, 川口昌彦, 堀内俊孝, 古家 仁: ミノサイクリンがラット脊髄虚血後の後肢運動機能および神経細胞傷害に及ぼす影響. 日本麻酔科学会 第56回学術集会, 神戸, 2009

[図書] (計 0 件)

なし

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

なし

○取得状況 (計 0 件)

なし

[その他]

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川口昌彦 (KAWAGUCHI MASAHIKO)
奈良県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：60275328

(2) 研究分担者

井上聡己 (INOUE SATOKI)
奈良県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：50295789

佐々岡紀之 (SASAOKA NORIYUKI)
奈良県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：70364073

古家 仁 (FURUYA HITOSHI)
奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：70183598

(3) 連携研究者

なし