

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11564

研究課題名(和文)心肺蘇生後の脳浮腫予防のための複合的な治療戦略

研究課題名(英文)The new approach to treating cerebral edema following cardiac arrest

研究代表者

中山 慎(Nakayama, shin)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：60596443

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)：マウス心肺蘇生モデルを用いて脳浮腫に対する新しい薬物治療を検証した。虚血後早期に脳内で増加するNa-K-Cl共輸送体1(NKCC1)は脳内に水を引き込む。拮抗薬のブメタニド投与で脳浮腫は軽減したが、生存率が低かった。虚血後後期に発現するスルホニルウレア受容体は脳内に水を引き込む。拮抗薬であるグリベンクラミドは脳浮腫を軽減した。NKCC1はNa-K-ATPaseによって駆動される。遮断薬はこれを阻害するため、NKCC1を抑制する可能性がある。蘇生後に4時間遮断薬を持続投与したところ脳浮腫を軽減した。心停止後に脳内で発現する各種Naチャンネルを薬物で阻害すると脳浮腫は軽減できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心肺蘇生後に起こる脳浮腫は致命的であり根本的な治療法は確立されていない。マウス心肺蘇生モデルを用いて脳浮腫に対する新しい薬物治療を検証した。脳の血流が途絶えると細胞を保護するべく各種ナトリウムチャンネルが発現するがナトリウムと同時に水を脳細胞内に引き込んでしまう。これらを阻害する薬物、糖尿病治療薬であるグリベンクラミド、利尿薬であるブメタニド、抗不整脈薬のランジオロールが脳浮腫を軽減した。

研究成果の概要(英文)：A various new drug treatment for cerebral edema was tested using a mouse model of cardiopulmonary resuscitation. (1) Na-K-Cl co-transporter 1 (NKCC1), which increases in the brain early after ischemia, draws water into the brain. Treatment with the antagonist bumetanide reduced cerebral edema, however, dehydration was severe that resulted in poor survival rate. (2) Sulfonylurea receptors expressed after ischemia draw water into the brain. Glibenclamide, an antagonist, reduced cerebral edema. (3) NKCC1 is driven by the Na-K-ATPase; β -blockers inhibit this pathway and may therefore inhibit NKCC1. Continuous administration of β -blocker for 4 hours after resuscitation reduced cerebral edema. Treatment of drugs that inhibit various Na channels expressed in the brain after cardiac arrest reduced cerebral edema.

研究分野：麻酔・蘇生学

キーワード：脳浮腫 心肺蘇生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心肺停止・蘇生後に生じる脳浮腫は致命的であるが、根本的な治療法は確立されていない。現在の治療法は浸透圧利尿薬や開頭減圧術などの対症療法が主となっている。虚血後に発現する各種イオンチャネルは本来、さらなる脳障害を予防するため過剰なカルシウム流入を防ぐ目的で増加するが、ナトリウムと同時に水分を脳細胞内に引き込み浮腫の原因となる。これらのイオンチャネルに注目し薬物治療のターゲットとなり得るか検証した。

2. 研究の目的

マウス心肺停止モデルを用い7分間の心停止の後、蘇生処置を行った。これを全身臓器の虚血再灌流障害モデルとして利用した。蘇生後に各種薬剤を投与し脳水分量を測定し脳浮腫軽減効果を調べた。

3. 研究の方法

マウス心停止・蘇生モデル

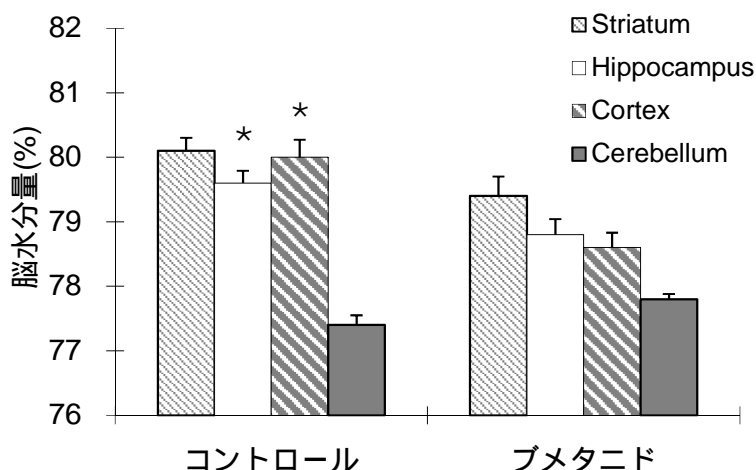
マウス(オス、8-12週、体重20-30g、C57bl/6)にイソフルレン2%で全身麻酔後に気管挿管し人工換気を開始。右内頸静脈からPE-10カテーテルを挿入した。左側頭筋内に温度測定のプロベを挿入、心電図、直腸温計を装着。酸素、空気、イソフルレンで人工換気し、10分間の安定状態を保った後、中心静脈から塩化カリウム(0.05ml 0.5M)を注入し心停止を誘発した(心電図、動脈圧の低下で確認)。心停止時間は7分とした。7分後、純酸素で人工呼吸を再開、エピネフリン0.5ml(16 μ g/ml)を30秒間で中心静脈から投与、1分間に300回の心臓マッサージを開始した。通常蘇生開始後180秒以内に自己心拍が再開する。蘇生後30分間観察し、1分間に30回以上の自発呼吸を確認したところでケージに戻した。処置中は側頭筋温、直腸温を連続的にモニターした。蘇生30分後に各種薬剤の投薬を開始。蘇生24時間後に脳水分量をwet-to-dry法で測定しコントロール群と比較した。脳内の各種サイトカイン測定は蘇生6、24時間後に行った。

4. 研究成果

(1) 虚血後早期に脳内で発現するNa-K-Cl共輸送体1(NKCC1)の拮抗薬ブメタニドに脳浮腫軽減効果があるか調べた。7分間の心停止、蘇生後30分にブメタニドを15mg/kg静脈投与(iv)し、24時間後に脳水分量を測定した。最初は30mg/kgを投与したが生存率が50%を下回ったため15mg/kgに減量した。

【結果】脳水分量はコントロール群(生理食塩水: NS)より海馬、皮質で有意にブメタニド投与群が少なかった(図1)(海馬: $79.4 \pm 0.3\%$ vs $80.1 \pm 0.2\%$, 皮質: $78.8 \pm 0.2\%$ vs $79.6 \pm 0.3\%$, mean \pm SEM, $P < 0.05$)。生存率はブメタニド群の方が低かった(70% vs 90% コントロール群)。

(図1)



【結論】ブメタニド投与により脳水分量は減少したが、利尿作用による脱水症状のためか蘇生後の生存率が低下した。

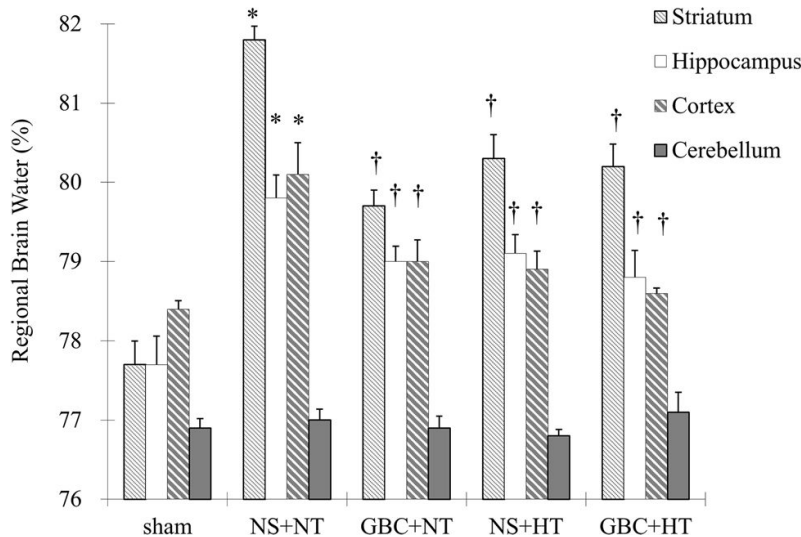
(2) 虚血後後期に出現するスルホニルウレア受容体の阻害薬であるグリベンクラミド投与(GBC)が脳水分量を減少するか調べた。GBCは初回量10 μ g/kg、6時間後、18時間後に4

μg/kg を皮下投与した。加えて蘇生後2時間、体温を33℃までマウスを冷却する低体温療法群とも比較した。実験群はシャム手術群、生理食塩水(NS)+常温(NS+NT)、GBC+常温(GBC+NT)、NS+低体温療法(NS+HT)、GBC+低体温療法(GBC+HT)の計5群。

【結果】生理食塩水+常温(NS+NT)群と比較してGBCと低体温療法で有意に脳水分量が減少した(図2)。GBC+低体温療法でさらなる脳浮腫軽減効果はなかった。

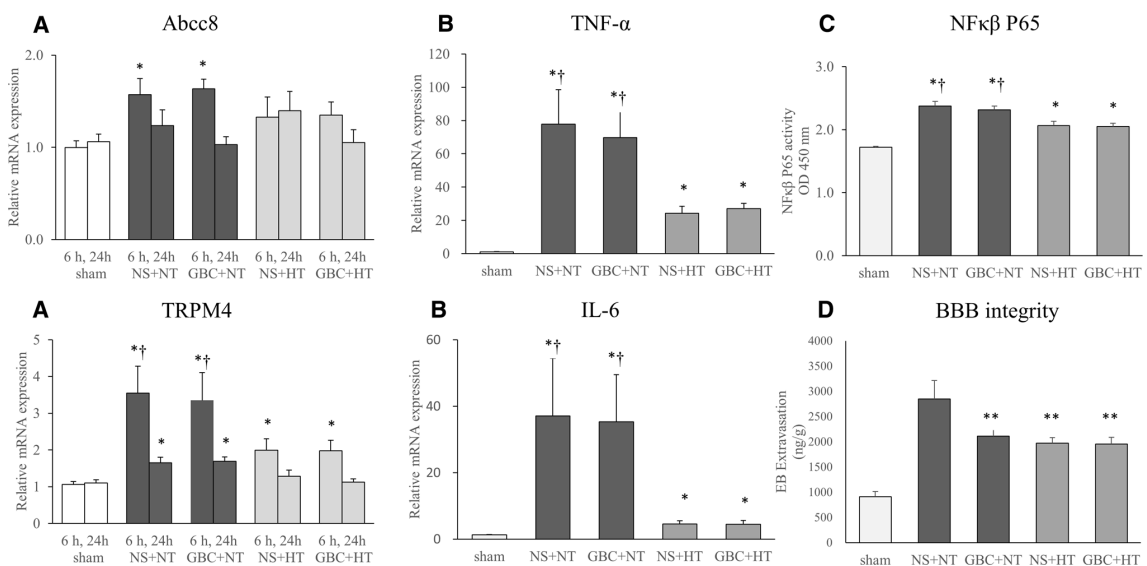
心肺蘇生4群間で血圧の変化はなかった。心拍数は低体温群で蘇生60分後に有意に少なかった。血糖値はGBC投与群とNS群で差はなかった。

(図2)



スルホニルウレア受容体の発現遺伝子である Abcc8 と TRPM4 は常温群で蘇生後に有意に上昇していた(低体温群で発現が抑制されていた)。サイトカインも常温群で蘇生後に有意に上昇していた(低体温群で発現が抑制されていた)。脳血液関門(BBB)はNS+NT群で蘇生後に有意に障害されていた(図3)。

(図3)



【結論】

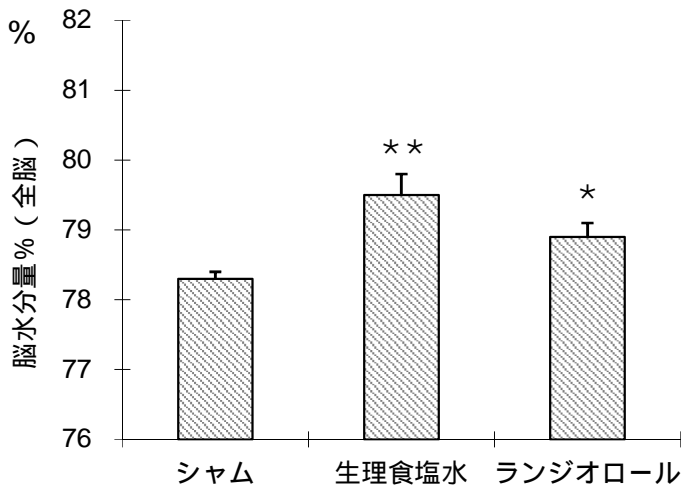
蘇生後に脳内のスルホニルウレア受容体の発現が増加していた。この受容体の阻害薬であるグリベンクラミドは脳浮腫を軽減し、その効果は低体温療法と同程度であった。

(3) NKCC1 は Na⁺-K⁺-ATPase によって駆動される。遮断薬はこの Na⁺-K⁺-ATPase を阻害するため、NKCC1 を抑制して浮腫を軽減する可能性がある。蘇生30分後から短時間作用性遮断薬であるランジオロール(3 mg/kg/hr)を4時間持続投与した。24時間後に脳水分量を測定した。

【結果】生存率はどちらも100%でコントロール群と差はなかった。ランジオロール群では

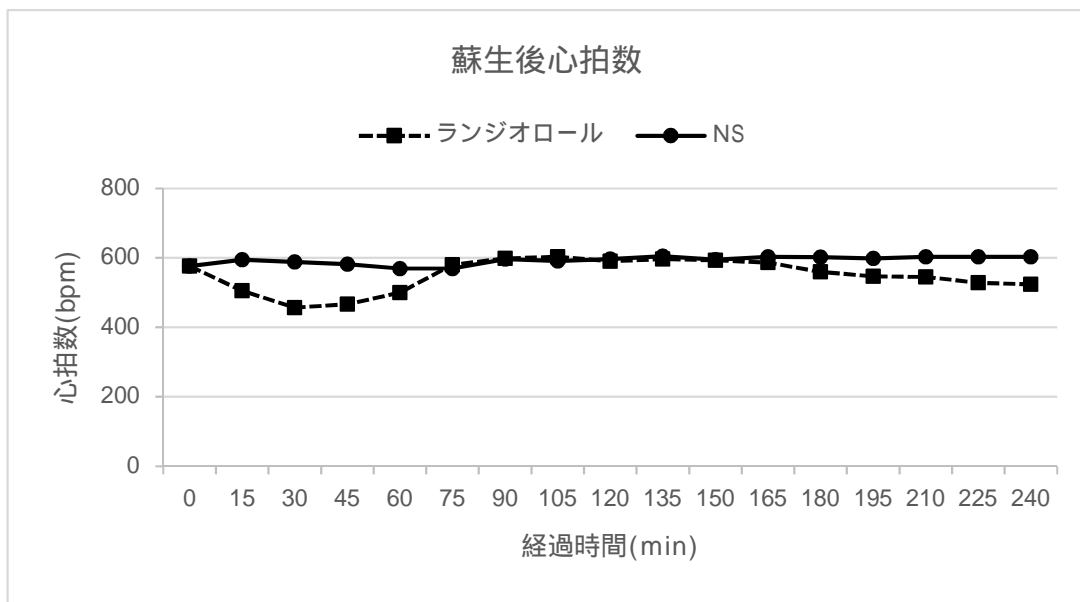
蘇生 24 時間後の脳水分量を約 0.5% 軽減した ($78.9 \pm 0.2\%$ vs $79.5 \pm 0.3\%$, mean \pm SEM, $P < 0.05$) (図 4)。蘇生後の心拍数は 2 群間で差がなかった (図 5)。

(図 4)



** $P < 0.05$ vs シャム、* $P < 0.05$ vs 生理食塩水

(図 5)



【結論】

遮断薬投与により蘇生後の脳浮腫を軽減した。
 上記動物実験の結果から脳浮腫後に出現するイオンチャネルを各種薬物で阻害することにより脳水分量を軽減できることが示された。薬用量によっては全身状態が悪化する場合もあり、投与やタイミングの検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakayama Shin、Taguchi Noriko、Isaka Yumi、Nakamura Takako、Tanaka Makoto	4. 巻 29
2. 論文標題 Glibenclamide and Therapeutic Hypothermia Have Comparable Effect on Attenuating Global Cerebral Edema Following Experimental Cardiac Arrest	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neurocrit Care	6. 最初と最後の頁 119-127
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12028-017-0479-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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 分 担 者	田口 典子 (Taguchi Noriko) (90569774)	筑波大学・医学医療系・准教授 (12102)	