

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09361

研究課題名（和文）二酸化炭素による新たな脊髄保護戦略

研究課題名（英文）Beneficial effects of carbon dioxide

研究代表者

木田 康太郎（Kida, Kotaro）

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：70385318

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：二酸化炭素の脊髄保護の作用メカニズムを明らかにするため、申請者らは脊髄保護の機序として「二酸化炭素吸入は脊髄虚血モデルで脊髄血流を増加させる」との仮説を立て検証を行った。マウス一過性脊髄虚血モデルで二酸化炭素吸入により脊髄血流が増加するかを調べるため、レーザードップラーを用いて脊髄血流を測定した結果、二酸化炭素吸入は再灌流後の脊髄血流を増加させることが明らかになった。二酸化炭素吸入による脊髄保護の機序として、脊髄血流の増加が関与している可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胸部・胸腹部大動脈手術の術後に起こる遅発性対麻痺は解決されていない問題である。今回の研究結果から、二酸化炭素吸入が遅発性対麻痺に対して非常に強い予防効果を示すことが明らかになり、その脊髄保護の機序として二酸化炭素吸入による脊髄血流の増加が関与していることが示された。二酸化炭素吸入による脊髄保護効果は、低換気による高二酸化炭素血症によっても脊髄保護効果を示すことが明らかになっている。これらの結果から、脊髄保護の観点では胸部・胸腹部大動脈手術の術中管理において脊髄保護の観点からは、動脈血中の二酸化炭素分圧（PaCO₂）を高めに維持する必要性が示された。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the mechanism of spinal cord protection by carbon dioxide, we hypothesized that "carbon dioxide inhalation increases spinal cord blood flow in a spinal ischemia model" and conducted verification. Using a mouse transient spinal ischemia model, we measured spinal cord blood flow with a laser doppler to investigate whether carbon dioxide inhalation increases spinal cord blood flow. The results showed that carbon dioxide inhalation increases spinal cord blood flow after reperfusion. This suggests that the mechanism of spinal cord protection by carbon dioxide inhalation may involve an increase in spinal cord blood flow.

研究分野：Anesthesiology

キーワード：脊髄虚血 遅発性対麻痺 二酸化炭素 胸腹部大動脈手術 脊髄血流

I. 研究の背景

【遅発性対麻痺に対する予防法はない】

胸部・胸腹部大動脈の手術件数は高齢化社会に伴い増加しており、本邦でも年間に10,000件を超えている。術式や周術期管理の進歩により大動脈手術の周術期死亡率は減少したが、脊髄虚血障害による術後対麻痺の発生はいまだ解決されていない重大な合併症である。特に遅発性対麻痺の予防に関しては、脳脊髄液ドレナージを含むあらゆる治療法も効果が見られず、新しい予防法の確立が急務となっている。

【CO₂吸入は心停止後の中枢神経を保護する】

申請者らは、CO₂吸入による中枢神経の保護作用に着目し、マウス蘇生モデルを用いて検証を行った。8分間の心停止後に人工呼吸・胸骨圧迫による心肺蘇生を開始し、自己心拍再開後よりCO₂吸入を開始したところ、CO₂吸入群で蘇生後の生存率および神経機能が改善した。

【CO₂吸入は遅発性対麻痺を予防できる可能性がある】

CO₂吸入の心停止に対する保護効果を発展させ、申請者らは脊髄虚血に対する保護効果を調べた。マウスを用いて一過性脊髄虚血モデルを作り、CO₂吸入群では脊髄虚血前より5%のCO₂吸入を開始し、再灌流後10分まで吸入を継続した。その結果、CO₂を吸入していないマウスでは遅発性の対麻痺を発症したが、CO₂を吸入した群では対麻痺はみられなかった(図1)。

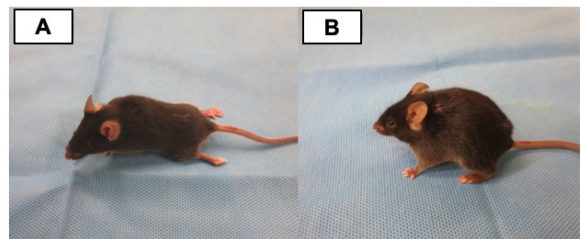


図1. 脊髄虚血後72時間後のマウスを示す。(A) CO₂を吸入しなかったマウスでは遅発性対麻痺を発症した。(B) CO₂吸入群では対麻痺はみられなかった。

II. 研究の目的

【研究目的】

本研究の目的は、CO₂の脊髄保護の作用メカニズムを動物モデルを用いて解明し、胸部・胸腹部大動脈手術後の遅発性対麻痺に対する新しい脊髄保護戦略として臨床応用につなげることである。

本研究ではCO₂吸入の脊髄虚血に対する保護作用を検証するが、CO₂吸入による新しい治療が臨床に応用された場合のインパクトは非常に大きいものであると予想される。CO₂は大気中に4番目に多く含まれる気体であるため安く、すでに腹腔鏡下手術での長年にわたる臨床使用実績があるため、すぐに臨床試験の開始が可能である。本研究の成果により胸部・胸腹部大動脈手術後の神経学的予後と社会復帰率を改善することができれば、患者のQOLの改善だけでなく、労働力喪失、医療費の削減による経済損失の回避が期待できる。

III. 研究方法

a) 動物準備

すべての動物実験は、東京慈恵会医科大学の動物実験委員会の承認を受けて行い、マウスの一過性脊髄虚血 (Spinal cord ischemia: SCI) モデルは、これまでの報告に若干の修正を加えて実施した。マウスは生後 8~10 週間の C57BL/6J 雄マウスを使用した。麻酔は 5% のイソフルランを使用して全身麻酔導入、気管挿管を行い 1.5% のイソフルランで機械換気を行い麻酔維持をした。換気パラメータは、MiniVent Type 845 (Hugo Sachs Elektronik) を使用して、1 回換気量 10ml/kg、呼吸数 100 回/分に調整した。温度計は第 1~第 3 腰椎のレベルの傍脊椎筋に挿入し、体温は加熱ランプと加熱パッドを使用して $37 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ になるよう調整した。PE-10 チューブを左大腿動脈および静脈に挿入し、動脈血圧のモニタリングを行った。

b) マウス脊髄虚血モデル

SCI は、前述の通り 2 本の血管クリップを使用して大動脈弓および左鎖骨下動脈の起始部をクランプすることにより作成した。閉塞は 4.5 分間続き、その後クリップを除去した。閉創後スガマデクス(4mg/kg)を投与し、抜管した。

c) 実験群

1. コントロール群：マウスは実験中 100%O₂を吸入し、呼吸数は 100 回/分に維持した。
2. CO₂吸入群：SCI の開始 10 分前から挿管解除まで、マウスは 5%CO₂含有 95%O₂ のガスを吸入し、呼吸数は 100 回/分に維持した。
3. 低換気群：マウスは 100%O₂で換気し、呼吸数は SCI 開始の 10 分前から実験終了まで 60 回/分に維持し、高二酸化炭素血症を誘導した。

d) 運動機能評価

運動機能は、手術前および SCI 後 24、48、72 時間に Basso マウススケール(BMS) を使用して評価した。BMS は 0 から 9 までのスコアで評価され、スコアが高いほど運動機能が良好であることを示す。

e) 脊髄虚血後の局所脊髄血流

SCI 後の CO₂の脊髄保護効果を調べるため、局所脊髄血流 (rSCBF) をレーザードップラーフローメーター (PF 5010 LDPM Unit, Perimed AB) を使用し測定した。挿管後、動脈圧ラインを確保し、レーザードップラーのプロローベを腰椎に設置した。SCI 前後の連続的な動脈血圧および rSCBF の測定を行った。

f) 統計解析

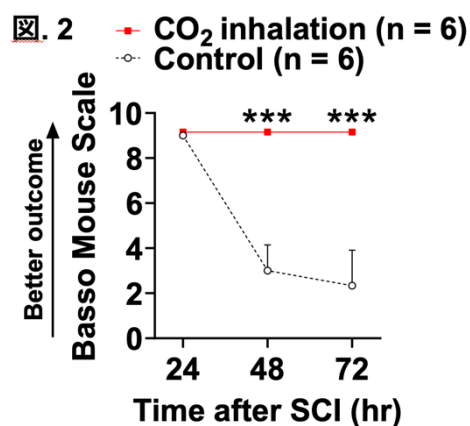
SCI は、BMS、動脈血圧、および rSCBF の変化は、Bonferroni's multiple comparisons test を用いた二元反復測定分散分析で解析した。統計解析は GraphPad Prism 10.2 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) を使用し、P 値が 0.05 未

満を統計的に有意とした。

IV. 研究結果

a) CO₂ 吸入は脊髄虚血後の遅発性対麻痺の発生を防ぐ

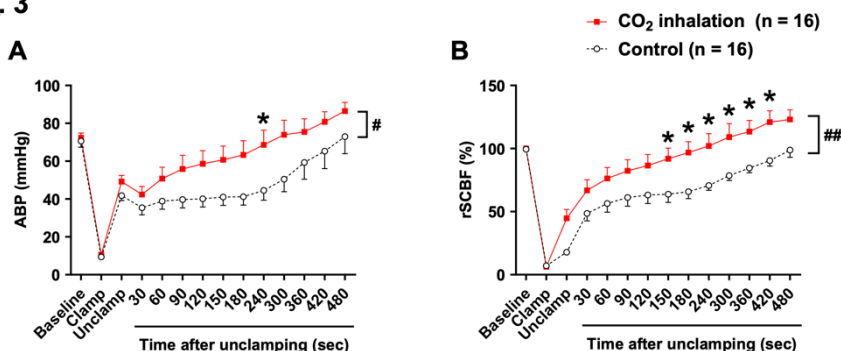
コントロール群のマウスは SCI 後 48 および 72 時間で遅発性対麻痺を示した。対照的に、CO₂ 吸入群のマウスでは SCI 後に対麻痺を示さなかった (図 2)。これらの結果は、CO₂ 吸入が SCI 後の対麻痺の発生を防ぐ保護効果を有することを示唆する。



b) CO₂ 吸入は脊髄虚血中および虚血後の動脈血圧および局所脊髄血流を増加させる

動脈血圧は、CO₂ 吸入群において SCI 中および SCI 後にコントロール群と比較して有意に高かった (図 3A)。さらに、rSCBF は、SCI 中および SCI 後にコントロール群に対して CO₂ 吸入群で著しく高かった (図 3B)。これらの結果は、動脈血圧および rSCBF の増加が SCI 後の遅発性対麻痺の減少に寄与する可能性を示している。

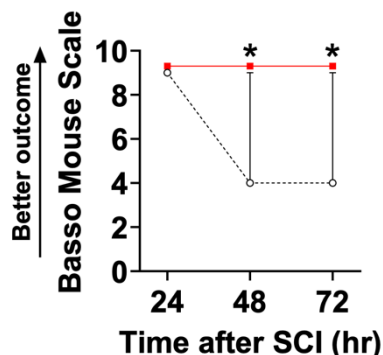
図. 3



c) 低換気は脊髄虚血後の遅発性対麻痺発生を防ぐ

低換気群では、SCI 後 48 および 72 時間の BMS スコアがコントロール群と比較して改善しました (図 4)。これは、CO₂ 吸入および低換気の両方が SCI 後の遅発性対麻痺の発生を防ぐ効果があることを示している。

図. 4 —■— Hypoventilation (n = 10)
-○- Control (n = 10)



V. 考察と今後の展望

本研究では、マウス一過性脊髄虚血モデルにおいて CO₂吸入が遅発性対麻痺の発生を防ぐことを明らかにした。CO₂吸入による脊髄保護は、血圧および脊髄血流 (rSCBF) の増加を共なっていた。さらに、低換気による高二酸化炭素血症も SCI 後の遅発性対麻痺の発生を抑制することが確認された。これらの観察結果は、高二酸化炭素血症が SCI 後の遅発性対麻痺に対する有効な治療戦略となる可能性を示唆している。

脊髄虚血に対し様々な治療に関する広範な研究が行われているにもかかわらず、遅発性対麻痺に対して神経保護効果を示す薬理学的アプローチを実証した臨床試験はまだない。この状態の原因となるメカニズムは完全には理解されていないが、いくつかの研究は、遅発性対麻痺を示す脊髄内での活性酸素種の増加、アポトーシス、および炎症の増加を報告している。最近の研究では、CO₂が様々な動物およびヒトの細胞において活性酸素種の生成を普遍的に抑制することが示されている。我々の研究では、CO₂吸入が SCI 後の遅発性対麻痺に対して神経保護効果を示した。この結果は、炎症の抑制および脊髄血流の改善が遅発性対麻痺を防ぐメカニズムの一因であることを示唆している。二酸化炭素による脊髄保護効果に対する詳細なメカニズムを解明するためにはさらなる研究が必要である。

CO₂吸入と同様に、低換気による高二酸化炭素血症も SCI 後の遅発性対麻痺に対して神経保護効果を示した。この介入はシンプルで効果的な脊髄保護の戦略となり得る。臨床実践においては許容性過呼吸症が既に採用されている。したがって、引き続き研究を進めることで、過呼吸症が SCI 後の遅発性対麻痺の管理における新たな治療アプローチとして確立される可能性がある。

結論として、我々の研究は、CO₂吸入および低換気による高二酸化炭素血症が SCI 後の遅発性対麻痺に対して神経保護効果を示すことを明らかにした。低換気による高二酸化炭素血症は、特に手術室内で容易に適用可能な方法である。我々の発見は、SCI 後の遅発性対麻痺に対する新たな治療戦略のための重要な基礎研究結果となると考えられた。

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

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 脊髄虚血障害を抑制するための医薬組成物	発明者 木田康太郎	権利者 木田康太郎、住友精化株式会社
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-072780	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	山田 真吏奈 (Yamada Marina) (70508621)	日本体育大学・保健医療学部・准教授 (32672)	

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