

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2013

課題番号：22591715

研究課題名(和文) 脊髄虚血後のミクログリア活性化制御による神経保護効果に関する検討

研究課題名(英文) Evaluation of neuroprotective efficacy by the regulation of microglial activation 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・教授

研究者番号：60275328

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：脳虚血に対するミノサイクリンの脳保護作用は報告されているが、脊髄虚血に対する効果は不明である。ラット脊髄虚血モデルを用いて、ミノサイクリンの虚血前からの投与の神経保護効果を検討した。結果、ミノサイクリンが脊髄虚血後の後肢運動機能を改善し、灰白質・白質障害を軽減した。家兔脊髄虚血モデルにおけるミノサイクリンの虚血後のtherapeutic windowについても検討した。虚血再還流後1時間の投与であれば脊髄虚血後の後肢運動機能を改善し、灰白質・白質障害を軽減した。本研究結果より、脊髄虚血モデルにおいてもミノサイクリンの神経保護効果が認められる事が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Although minocycline has been shown to have neuroprotective effects in models of cerebral ischemia, there have been no data available regarding the effects of minocycline in a model of spinal cord ischemia (SCI). In the first study, we investigated the effects of minocycline in a rat model of SCI. Minocycline was intraperitoneally administered for 3 days beginning at 12 hours before 10 minutes of SCI. The results indicated that minocycline administration improved hind-limb motor function and attenuated gray and white matter injury. In the second study, we investigate whether postischemic administration of minocycline attenuates hind-limb motor dysfunction and gray and white matter injuries after SCI in rabbits. The results indicated that minocycline administration beginning at 1 hour after reperfusion improved hind-limb motor dysfunction and attenuated gray matter injury after SCI in rabbits. These results indicated that minocycline can be a candidate for neuroprotection for SCI.

研究分野：麻酔蘇生学

科研費の分科・細目：基盤研究(C)

キーワード：脊髄虚血 ミクログリア ミノサイクリン

1. 研究開始当初の背景

術後の中枢神経系合併症の発生は、患者の機能的予後あ Quality of Life (QOL)に重大な影響を及ぼすだけでなく、入院期間の延長や医療コストの増大につながると同時に、医療訴訟の原因ともなっている。これらの術後神経系合併症の軽減のため、発生要因やそのメカニズム、術中の管理法やモニタリング法など様々な角度から検討がなされているが、未だ解明は不十分である。特に胸腹部大動脈瘤手術における脊髄虚血における術後対麻痺は重大でその対策が急務である。

2. 研究の目的

脳脊髄虚血に炎症反応が関与していることが報告されており、虚血後の炎症反応制御が神経障害軽減に寄与する可能性が示唆されている。本研究では、脊髄虚血モデルを用いて、虚血後のミクログリア活性化制御が灰白質および白質障害を軽減できるかを検討する。ミクログリア活性化制御として、臨床で使用可能なミノサイクリンを用いて、その効果を検討する。

3. 研究の方法

<研究 1>

ラット脊髄虚血を用いて、虚血前からのミノサイクリンの脊髄保護効果を検討した。脊髄虚血は4Fr フォガティーカテーターを左大腿動脈より挿入し、左鎖骨下動脈でバルーンを拡張するとともに、右総頸動脈からの脱血をおこない、脊髄虚血とした。虚血時間は10分とした。ミノサイクリンは虚血前日から再還流後48時間まで腹腔内投与をおこなった。再還流72時間後にBasso, Beattie, Bresnahan (BBB) scoreにて後肢運動機能を評価した。組織学的検討はHE染色を用い、灰白質障害として正常神経細胞数を、白質障害として空胞化率を算出した。また、ミクログリアの活性化を評価するため、iba1陽性細胞数をカウントした。

<研究 2>

家兔脊髄虚血モデルを用い、虚血後投与におけるtherapeutic windowを検討した。脊髄虚血はイソフルラン/フェンタニル麻酔下、腎動脈分岐部直下にて15分間の大動脈遮断を行った。雄性New Zealand White rabbitsを、再還流1時間後ミノサイクリン投与群(M1群、n=8)、3時間後ミノサイクリン投与群(M3群、n=8)、再還流1時間後生理食塩水投与群(NS群、n=8)、Sham群(n=4)の4群に無作為に割り付けた。ミノサイクリンは10mg/kgを12時間毎に60時間後まで静脈内投与した。NS群では生理食塩水3mlを同様に投与した。

Sham群では大動脈遮断を行わなかった。後肢運動機能はTarlov scoreを用いて評価し、再還流72時間後に還流固定し、組織学的評価を行った。組織学的検討はL5横断スライスをHE染色し、灰白質傷害は前角の神経細胞数を、白質は空胞化率を用いて評価した。

4. 研究成果

<研究 1>

ラット脊髄虚血モデルでのミノサイクリンの虚血前投与の検討では、ミノサイクリンが脊髄虚血後の後肢運動機能を改善し、灰白質・白質障害を軽減することが明らかになった。また、そのメカニズムとしてiba1陽性細胞の低下がみとめられたことからミクログリアの活性抑制が関与することが明らかになった。

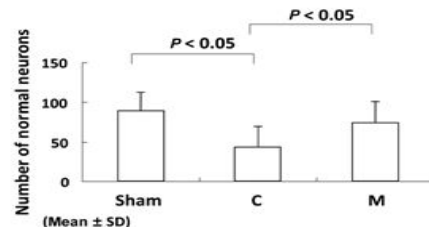
再灌流24,72時間後の後肢運動機能はミノサイクリン投与群(M群)はコントロール群(C群)に比較して、BBBは有意に高く、後肢運動機能は良好であった。

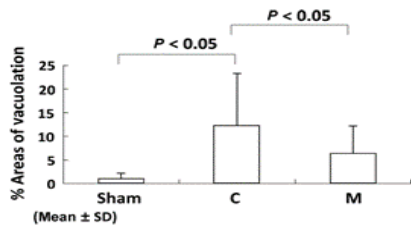
TABLE 2. Neurological Outcome

	BBB Score		
	Sham (n = 12)	C Group (n = 11)	M Group (n = 13)
24 hrs	21 (21-21)	1* (0-3)	13*‡ (8.75-17.25)
72 hrs	21 (21-21)	1* (0-8.5)	21‡ (16.75-21)

Values are expressed as median (25th-75th). Neurological outcome was assessed using Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) Locomotor Rating Scale, which consists of 22 levels from 0 (total paralysis) to 21 (normal locomotion). BBB scores were assessed 24 and 72 hr after reperfusion. BBB indicates Basso, Beattie, Bresnahan.
*P < 0.05 vs. Sham.
‡P < 0.05 vs. C group.

再灌流72時間の正常神経細胞数はC群に比べ、M群で有意に多かった。また、空胞化率はC群にくらべ、M群で有意に低かった(P<0.05)。

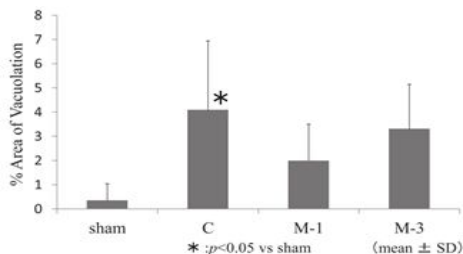
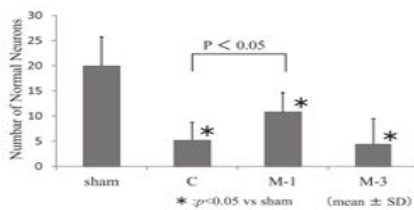




<研究 2>

家兔脊髄虚血モデルを用いた虚血後投与における therapeutic window の検討では、再還流 1 時間であればミノサイクリンの静脈内投与が後肢運動機能を改善し、灰白質障害を軽減することが明らかになった。

正常神経細胞数は C 群に比べ、再灌流 1 時間投与群 (M1) 群で有意に多かった。空泡化率は C 群に比べ、再灌流 1 時間投与群 (M1) 群で低い傾向にあったが、有意な差ではなかった。



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 3 件)

1) Watanabe K, Kawaguchi M, Kitagawa K, Inoue S, Konishi N, Furuya H. Evaluation of the neuroprotective effect of minocycline in a rabbit spinal cord ischemia model. J Cardiothorac Vasc Anesth 2012 ;26(6):1034-8.

2) Takeda M, Kawaguchi M, Kumatoriya T, Horiuchi T, Watanabe K, Inoue S, Konishi

N, Furuya H. Effects of minocycline on hind-limb motor function and gray and white matter injury after spinal cord ischemia in rats. Spine 2011 ;36(23):1919-24.

3) 川口昌彦、古家 仁。脳脊髄障害に対する予防と治療・基礎から臨床へ ミノサイクリンの脳脊髄保護効果。Cardiovascular Anesthesia 2011;15: 79-81

[学会発表](計 6 件)

1) 川口昌彦。心臓血管手術後の神経障害の現状と対策。第 12 回 福島周術期循環動態研究会 2013.7.6 福島

2) Masahiko Kawaguchi. Spinal cord monitoring during thoracoabdominal aortic aneurysm surgery. The 3rd meeting of Asian Society for Neuroanesthesia and Critical Care 2013.2.22, Bali, Indonesia

3) 川口昌彦。術後脳障害に対する周術期管理。周術期学術講演会 2012.2.18 名古屋

4) 川口昌彦。脳神経麻酔の up to date。第 123 回熊本麻酔学会 2012.1.28 熊本。

5) 川口昌彦。脳血管外科手術における周術期管理 : 麻酔管理と脳保護の up to date。日本脳神経外科学会第 70 回学術総会 2011.10.12 横浜

6) 川口昌彦。神経麻酔の up to date。麻酔・蘇生学セミナー 2011.9.10 福岡

[図書](計 0 件)

[産業財産権]
出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :

[産業財産権]
出願状況 (計 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 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
(川口 昌彦)

研究者番号：60275328

(2)研究分担者
(井上 聡己)

研究者番号：50295789

(2)研究分担者
(古家 仁)

研究者番号：70183598

(2)研究分担者
(瓦口 至孝)

研究者番号：90433333

(3)連携研究者
()

研究者番号：