

平成 29 年 5 月 17 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670615

研究課題名（和文）脊髄虚血に対するナノバブル発生技術を応用した脊髄液酸素化による脊髄保護法の開発

研究課題名（英文）Development of protection for spinal cord ischemic injury with oxygenation of the cerebrospinal fluid applying nanobubble generation technique.

研究代表者

秋山 正年（AKIYAMA, MASATOSHI）

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：80526450

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は胸腹部大動脈瘤手術時に合併する虚血性脊髄障害に対する脊髄保護法の開発を目的とした。ナノバブル発生技術を用いた酸素化人工髄液を作製し、それをウサギの髄腔内に持続注入することで、脳脊髄液酸素化を達成した。さらに、その状態で腹部大動脈をバルーン閉塞させることで、脊髄虚血を発生させると、脳脊髄液中の酸素分圧の上昇と相関して、下肢運動機能の温存が認められた。そのことから、脳脊髄液を酸素化することによって、虚血に伴う脊髄障害に対する脊髄保護効果がもたらされることが示唆された。さらなる検討を行い、胸腹部大動脈瘤手術に合併する脊髄障害に対する保護戦略の一助となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：A purpose of this study was to develop a preventive method against spinal cord ischemic injury after thoracoabdominal aneurysm repair. We applied nanobubble generation technique to oxygenation of fluid and produced oxygenated artificial cerebrospinal fluid. Continuously infusing it into intrathecal space in rabbit model made cerebrospinal fluid-pO<sub>2</sub> increased. And, under this condition, we confirmed that motor function of rabbit's lower limb was preserved correlating with increasing of cerebrospinal fluid-pO<sub>2</sub> when we occluded its abdominal aorta with a balloon catheter and induced spinal cord ischemia. From the above, we concluded that oxygenation of the cerebrospinal fluid with nanobubbles can ameliorate a spinal cord ischemic injury in a rabbit model. Modifications of CSF using nanobubble technology deserve to be considered as a novel strategy for spinal cord protection.

研究分野：心臓大血管外科、補助人工心臓、心臓移植

キーワード：胸腹部大動脈瘤 対麻痺 ナノバブル 脳脊髄液酸素化 虚血性脊髄障害

### 1. 研究開始当初の背景

胸腹部大動脈瘤手術は最も侵襲の大きい治療である。特に周術期脊髄障害は予後不良な合併症であり、その対策は未だ完全に確立されてはおらず、現状の心臓血管外科領域で残っている重要な課題である。

脊髄障害の発生は周術期および術後の脊髄血流の途絶や低下に起因するものである。その対策としては脊髄への血流増加を目指す戦略と脊髄組織の代謝を低下させる戦略、あるいは虚血再灌流障害の抑制を企図した戦略があり、一定の効果は報告されているものの、完全な脊髄障害対策にはなり得ていない。

### 2. 研究の目的

これまで脊髄が虚血に陥っている時間に脊髄組織とその周囲に起こっている現象について、脊髄組織の電気生理学的活動の低下と、脳脊髄液中の酸素分圧の低下が相関するとの報告があった。そこで、我々は脊髄組織が虚血中に低酸素状態に陥った際に、組織酸素分圧の低下に伴って、脳脊髄液中の酸素が移行していき、それが脊髄組織における細胞呼吸に使用されるのではないかと仮説を立てた。そして、脳脊髄液中に安全に酸素を供給することができれば、低酸素に伴う脊髄障害は抑制できるのではないかと考えた。

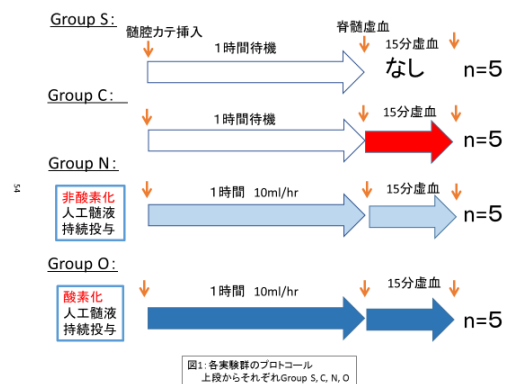
マイクロバブル/ナノバブルと呼ばれる微細な泡には、気体溶解度を高められるという特性がある。我々はこの微細な泡が持つ特性を応用し、過飽和酸素化人工髄液を作製し、さらにこれを用いて脳脊髄液中の酸素分圧を上昇させることで、虚血に伴う脊髄障害に対する保護効果を検討することを本研究の目的とした。

### 3. 研究の方法

まず市販されている人工髄液に対し、ナノバブル発生装置を用いて、過飽和酸素化人工髄液を作製した。次に家兎脊髄虚血モデルを用い、過飽和酸素化人工髄液を髄腔内に注入

し、脳脊髄液酸素化を行った後に、脊髄虚血を発生させる実験を行った。実験群として、以下の4群を設定した。

- ・Sham 群 (Group S); 髄腔内カテーテル留置と数秒間の大動脈内バルーン拡張操作
- ・コントロール群 (Group C); 髄腔内カテーテル留置と 15 分間の大動脈内バルーン閉塞による脊髄虚血
- ・髄液非酸素化群 (Group N); 髄腔内カテーテル留置と 1 時間の非酸素化人工髄液持続注入、15 分間の大動脈内バルーン閉塞による脊髄虚血
- ・髄液酸素化群 (Group O); 髄腔内カテーテル留置と 1 時間の過飽和酸素化人工髄液注入、15 分間の大動脈内バルーン閉塞による脊髄虚血



各群において、開始時および脊髄虚血発生時において、脳脊髄液圧、平均血圧、直腸温、動脈血酸素分圧、ヘモグロビン濃度の測定と脳脊髄液酸素分圧の変化を評価した。また虚血発生後 48 時間経過時の神経学的評価および病理学的評価を行った。

### 4. 研究成果

結果 (1) ナノバブル発生前の非酸素化人工髄液の平均酸素分圧値は  $188.4 \pm 8.1$  mmHg であった。一方で、ナノバブル発生後の過飽和酸素化人工髄液の平均酸素分圧は  $743.0 \pm 11.6$  mmHg であり、統計学的有意差をもって、過飽和酸素化人工髄液の酸素分圧の方が高値であった ( $P < 0.01$ )。

結果(2) 虚血性脊髄障害の要因となり得るとされる、脳脊髄液圧、平均血圧、直腸温、動脈血酸素分圧、ヘモグロビン濃度には4群間に有意差は認めなかった。脳脊髄液中の酸素分圧に関して、実験開始時点では有意差はなかったが、非酸素化および酸素化人工髄液を1時間持続注入した Group N および Group O において、それぞれ持続注入終了後、 $136.1 \pm 43.5$  および  $254.5 \pm 54.8$  mmHg であり、有意に Group O で酸素分圧が高かった ( $P = 0.012$ )。これをもって、目的とした脳脊髄液酸素化は達成されたと判断した。続いて15分間の脊髄虚血を発生させた後、脳脊髄液酸素分圧を測定すると、Group C、N、および O において、それぞれ  $65.8 \pm 18.6$ 、 $99.2 \pm 16.3$ 、および  $291.9 \pm 51.8$  mmHg であった。Group C と O を比較すると、Group O で有意に脳脊髄液酸素分圧が高値であった ( $P=0.010$ )。また、各群の評価では、Group C では、開始時と比較して、有意に虚血後の脳脊髄液酸素分圧の低下を認めたが ( $P < 0.01$ )、Group N では前後で有意差はなく、Group O では開始前と比較して、有意に高値を維持していた ( $P=0.01$ )。

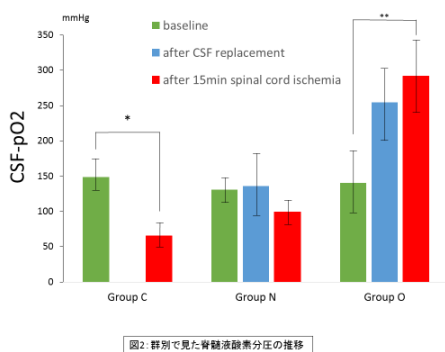


図2: 群別で見た脊髄液酸素分圧の推移

脊髄虚血 48 時間後の神経学的評価では、不全対麻痺の発症率が Group C、N、O、S において、それぞれ 100%、60%、20%、0% であり、Group O における不全対麻痺発症率は Group C よりも有意に低かった ( $P < 0.01$ )。modified Tarlov score の平均値はそ

れぞれ、 $2.6 \pm 1.1$ 、 $4.2 \pm 0.8$ 、 $4.8 \pm 0.4$ 、 $5.0 \pm 0$  であり、Group O で Group C と比較して有意にスコアが高かった ( $P=0.01$ )。

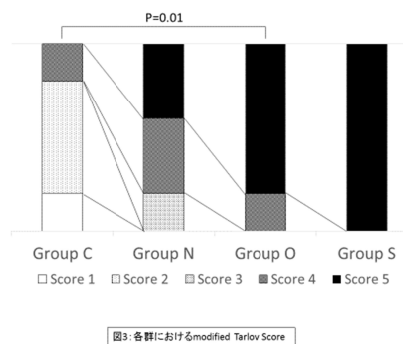


図3: 各群におけるmodified Tarlov Score

脊髄虚血 48 時間後の病理学的評価において、正常脊髄前角細胞数は Group C、N、O において、それぞれ L2 レベルで  $1.4 \pm 1.5$ 、 $6.0 \pm 2.7$ 、 $7.0 \pm 2.1$  個、L3 レベルでは  $1.0 \pm 1.2$ 、 $4.8 \pm 1.7$ 、 $5.8 \pm 2.5$  個であり、L2 レベルと L3 レベル共に、Group C では他の 2 群に比べて有意に正常脊髄前角細胞数が減少していた。

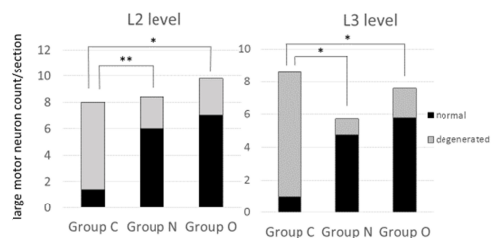


図4: 脊髄前角細胞数および正常脊髄前角細胞数の比較

## 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 1 件)

Keisuke Kanda, Osamu Adachi, Satoshi Kawatsu, Ko Sakatsume, Kiichiro Kumagai, Shunsuke Kawamoto, Yoshikatsu Saiki, Oxygenation of the cerebrospinal fluid with artificial cerebrospinal fluid can ameliorate a spinal cord ischemic injury in a rabbit model, The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 査読有、152 (5) 巻、2016、1401-1409  
DOI: 10.1016/j.jtcvs.2016.04.095

〔学会発表〕(計 1 件)

Keisuke Kanda, Oxygenation of the cerebrospinal fluid with nanobubbles can ameliorate a spinal cord ischemic injury in a rabbit model,  
AATS 96<sup>th</sup> Annual Meeting  
AMERICAN ASSOCIATION FOR THORACIC SURGERY, 17 May, 2016, Baltimore, USA

〔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：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 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

秋山 正年 (AKIYAMA, Masatoshi)  
東北大学・大学病院・講師  
研究者番号：80526450

### (2) 研究分担者

本吉 直孝 (MOTOYOSHI, Naotaka)  
東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師  
研究者番号：40375093

齋木 佳克 (SAIKI, Yoshikatsu)  
東北大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：50372298

熊谷 紀一郎 (KUMAGAI, Kiichiro)  
東北大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：80396564

### (3) 連携研究者