

# Experimental study on the protective effects edaravone against ischemic spinal cord injury

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 一周 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/287">http://hdl.handle.net/10271/287</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 457号	学位授与年月日	平成18年 3月15日
氏名	鈴木一周		
論文題目	Experimental study on the protective effects edaravone against ischemic spinal cord injury (虚血性脊髄障害に対する edaravone の保護効果の実験的検討)		

博士(医学) 鈴木 一周

## 論文題目

Experimental study on the protective effects of edaravone against ischemic spinal cord injury

(虚血性脊髄障害に対するedaravoneの保護効果の実験的検討)

## 論文の内容の要旨

### [はじめに]

胸部下行大動脈瘤や胸腹部大動脈瘤手術の合併症として、臨床的にさまざまな工夫がなされているにもかかわらず、脊髄虚血障害に起因する対麻痺の発生は6.8-8.3%と高率であり、この領域の手術の予後不良因子の一つである。虚血障害の原因としてfree radicalに着目し、その除去剤であるedaravoneを予防的投与することにより、障害の発生を防げるのかウサギモデルを用いて検討した。

### [材料ならびに方法]

ウサギ脊髄虚血モデルは、バルーン付きカテーテルを用い腎動脈下の腹部大動脈遮断にて作製し、虚血時間は30分とした。edaravone投与群と非投与群に分け、投与群では虚血開始30分前から、再灌流180分後まで計240分間、2.5mg/kg/hにて持続静注した。実験1では、再灌流24時間後と48時間後の後肢運動機能をJohnson score(0～5の6段階)により評価後、さらにL3レベルの脊髄を摘出し、組織学的検討を行った。実験2では、microdialysis法を用いて脊髄局所のfree radicalの発生を評価した。L3レベルで椎弓切除し脊髄へプローベを刺入固定し、脊髄虚血から再灌流180分後まで、50 $\mu$ mol/Lに希釈したHydroxyphenyl Fluorescein (HPF)溶液を灌流し15分毎に回収し、これを分光蛍光光度計で測定した。HPFはfree radicalと反応して強い蛍光を発する化合物である。

### [結果]

実験1) 後肢運動機能はedaravone非投与群では24,48時間後ともに0であり、全例で完全な対麻痺を呈した。edaravone投与群では24,48時間後それぞれ、 $3.4 \pm 1.8$ と $3.3 \pm 2.2$ で有意差( $p < 0.05$ )をもって改善を認めた。組織学的評価は、灰白質に残存する神経細胞を顕微鏡下にカウントしたが、非投与群、投与群それぞれ $20.0 \pm 10.8$ ,  $81.5 \pm 27.2$ で有意差( $p < 0.05$ )を認めた。

実験2) edaravone投与群と非投与群のintensityを比較すると、再灌流75,90,150分後で、edaravone投与群の方が有意( $p < 0.05$ )に低値であり、非投与群と比較してfree radicalの発生が少ないことが示された。また非投与群の中で、再灌流75分後のintensityを15,30,45分後と比較すると、有意( $p < 0.05$ )に高値であり大動脈遮断解除60分から75分をさかいに組織中のfree radicalが増加することが示された。また有意差はないが150分でも高い傾向を認めた。

### [考察]

free radicalは一般的に半減期が非常に短く微量なため、検出することは極めて困難である。今回、用いたHPFはhydroxyl radical( $\cdot$ OH)やperoxynitrite(ONOO $\cdot$ )と反応することで強い蛍光を発する安定した化合物であり、これを灌流液としたmicrodialysis法にて評価した。

この方法はfree radicalを直接的に捕らえられ、虚血／再灌流の過程で経時的なfree radicalの増減を評価できる。edaravone非投与群では再灌流75分後にピークを認め、もっとも多くfree radicalが発生したことを示している。また有意差はないが150分後にもう1つのピークを認めた。これらのことは、虚血／再灌流障害は、再灌流直後ではなく、ある程度時間が経過してから生じていることを示唆している。虚血組織への血流が徐々に回復するにしたがってfree radicalが発生し、その結果ピークの遅れが生じていると考えられる。脳の虚血／再灌流では、free radicalのピークは15分から40分とされているが、今回の脊髄障害の研究ではさらに遅い。これは組織傷害の程度の差や、血流のnetworkの違いのために、障害組織への血流回復時間に違いが生じ、ピークの違いとなつて現れていると考えられる。また、free radicalの発生は二相性を示したが、その後者のピークは炎症性細胞、特に好中球によるものと考えられる。free radicalの発生は再灌流75、90、150分後にedaravone投与群で有意に低値を示している。これは発生したfree radicalがedaravoneにより除去されたためと考えられる。虚血発生時の組織障害そのものは残るものの、それに引き続き生成されるfree radicalによる組織障害は、最小限に抑制され、神経学的運動機能の改善や灰白質の残存神経細胞数の増加に寄与したものと考える。

#### 〔結論〕

ウサギ脊髄虚血モデルに対してedaravoneを予防的に投与することは、運動機能、灰白質神経細胞の残存数ともに改善を認めた。free radicalを検出する方法として、HPFを用いたmicrodialysis法は極めて有用であり、edaravone投与によりfree radicalが除去されていることが証明された。胸腹部大動脈手術の際、edaravoneの予防的投与が有用な脊髄保護手段の一つとなるかもしれない。

### 論文審査の結果の要旨

胸部下行大動脈瘤や胸腹部大動脈瘤の手術においては、この手術のエキスパートが、いかに詳細な術前検査後に手術を行っても、ある一定の確率(6.8-8.3%)で虚血性脊髄障害に起因する対麻痺がおこる。この大動脈瘤手術に伴う虚血性脊髄障害を極力軽減する目的にて、申請者らは虚血障害の原因の一つであるfree radicalの産生に着目し、その除去剤であるedaravoneによる予防効果につき検討を加えた。

実験にはウサギを用い、バルーン付きカテーテルにて腎動脈下の腹部大動脈を遮断することにより脊髄虚血モデルを作成し、虚血時間は30分とした。edaravone投与群と非投与群に分け、投与群では虚血開始30分前から、再灌流180分後まで計240分間、2.5mg/kg/hにて持続静注した。実験1では、再灌流24時間後と48時間後の後肢運動機能をJohnson score(0～5の6段階)により評価後、L3レベルの脊髄を摘出し、組織学的検討を行った(各群n=10)。実験2では、虚血中から再灌流180分後までの脊髄内free radical産生量をmicrodialysis法を用いて15分毎に測定した(各群n=5)。筋弛緩、人工呼吸下にL3レベルで椎弓切除し脊髄内へプローベを刺入後、実験1と同様に脊髄虚血を作成し、free radicalと反応して強い蛍光を発する化合物であるhydroxyphenyl fluorescein(HPF)を50 $\mu$ mol/Lに希釈した溶液にて灌流した回収液を分光蛍光光度計にて測定した。

本研究で申請者らは脊髄虚血時および再灌流中のfree radical産生量を測定し、free radical除去剤であるedaravoneがfree radical産生量を有意に抑制することを示した。一般的にfree radicalは微量な上、半減期が非常に短いため、測定することは極めて困難である。今回、hydroxyl radical( $\cdot$ OH)やperoxynitrite(ONOO $\cdot$ )と反応することで強い蛍光を発する安定した化合物であるHPFを灌流液としたmicrodialysis法を用いるこ

