



## Effect of prophylactically administered Edaravone during antegrade cerebral perfusion in a canine model of old cerebral infarction

|       |  |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: Japanese<br>出版者: 浜松医科大学<br>公開日: 2013-08-27<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 鈴木, 卓康<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/10271/337">http://hdl.handle.net/10271/337</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 480号   | 学位授与年月日 | 平成19年 3月14日 |
| 氏名    | 鈴木卓康   |         |             |
| 論文題目  | Effect of prophylactically administered Edaravone during antegrade cerebral perfusion in a canine model of old cerebral infarction<br>(イヌ慢性脳梗塞モデルを用いた順行性脳灌流における予防的エダラボン投与による脳保護効果) |         |             |

博士(医学) 鈴木卓康

## 論文題目

Effect of prophylactically administered Edaravone during antegrade cerebral perfusion in a canine model of old cerebral infarction.

(イヌ慢性脳梗塞モデルを用いた順行性脳灌流における予防的エダラボン投与による脳保護効果)

## 論文の内容の要旨

[はじめに]

大動脈弓部全置換術における順行性選択的灌流法(ASCP: antegrade selective cerebral perfusion)は脳エネルギー代謝等の面から優れた脳保護法であるが、本法を用いた我々の弓部全置換術220例の多変量解析による検討において、脳梗塞の既往が術後中枢神経機能障害のindependent predictorであることが判明した。これまでに我々は、犬慢性脳梗塞モデルを用いたASCPにおいて、復温後の嫌気性代謝の亢進、脳神経細胞障害の指標である血液中glutamate濃度の上昇、および脳虚血の指標である血液中のフリーラジカルの過剰発生を報告した。これらより脳梗塞巣周囲(ペナンプラ領域)における虚血・再灌流に起因して発生するフリーラジカルによる脳神経細胞障害が、術後中枢神経機能障害の原因の一つとして推測された。そこで慢性脳梗塞モデルに対するASCPにおいて、free radical scavenger (Edaravone)の予防的投与による脳保護効果を検討した。

[材料ならびに方法]

交雑犬(雌)の左内頸動脈からシリコン円柱を注入し、左中大脳動脈領域を選択的に塞栓し脳梗塞を作製。12時間後、神経症状をSmith ALらの報告に準じ5段階評価し、score 2もしくは3でかつ4週以上生存したものを慢性脳梗塞モデルとして採用。正常交雑犬および脳梗塞モデルそれぞれ12頭に対して、人工心肺を用いたASCP(直腸温20℃、灌流量10ml/kg/min)を120分間施行した後に36℃まで復温する実験を行い、以下の4群に分類した:A群(正常犬、非Edaravone投与)、B群(正常犬、Edaravone投与)、C群(慢性脳梗塞犬、非Edaravone投与)、D群(慢性脳梗塞犬、Edaravone投与)(各群ともn=6)。Edaravone投与群には冷却直前と冷却開始30分後にそれぞれEdaravone 1.5mg/kgを投与した。生化学的評価として血液中のmalondialdehyde(MDA)、hexanoyl-lysine(HEL)、glutamate濃度を経時的に定量し、中枢神経系の機能的評価として体性感覚誘発電位(SEP:somatosensory evoked potential)を計測・解析した。

[結果]

各群において術前因子および術中因子に有意差を認めなかった。C群において、ASCP120分後より血液中MDA及びHEL濃度の有意な上昇を認め、復温に伴いその差は拡大した。またC群において、復温中直腸温28℃以降の血液中glutamate濃度の有意な上昇と、復温中直腸温28℃での動静脈乳酸較差の有意な拡大を認めた。またSEP解析では、C群において復温後の有意な中枢伝導時間の延長と振幅の低下を認めた。C群で認められた上記全ての有意所見は、D群においては正常犬群と有意差がないまでに改善された。

## [考察]

優性脳梗塞モデルにおけるASCP後の血液中HEL及びMDA濃度の有意な上昇から、同モデルに対するASCPによる虚血・再灌流の存在と、これに起因するラジカルの過剰発生が示唆された。また同モデルにおける復温後の血液中glutamate濃度の有意な上昇と動静脈乳酸較差の有意な拡大から、同モデルに対するASCP後の嫌気性代謝を伴う脳神経細胞障害が示唆された。さらにSEP解析による同モデルにおける復温後の中枢伝導時間の有意な延長と振幅の有意な低下から、ASCP後の中枢神経機能障害が電気生理学的にも証明された。以上より慢性脳梗塞モデルに対するASCPにおいて、脳梗塞巣周囲のパナンプラ領域における虚血・再灌流によって過剰発生したフリーラジカルの術後中枢神経機能障害への関与が推測された。本実験では、このパナンプラ領域で発生するフリーラジカルを減少させる方法として、free radical scavengerであるEdaravoneの予防的投与を試みた。本実験結果として、慢性脳梗塞モデルに対するASCP前にEdaravoneを予防的に投与することによって、ASCP後の血液中HEL及びMDA濃度の上昇を有意に抑制し、同時に復温後の血液中glutamate濃度の上昇と動静脈乳酸較差の拡大をも有意に改善した。また、SEP解析においても復温後の中枢伝導時間の延長と振幅の低下を有意に改善した。以上より慢性脳梗塞モデルに対するASCPにおけるEdaravoneの予防的投与は、パナンプラ領域でのフリーラジカルの過剰発生を抑制することにより脳神経細胞障害を抑制し、術後の中枢神経機能障害を軽減することが示唆された。

## [結論]

犬慢性脳梗塞モデルに対する順行性選択的脳灌流において、Edaravoneの予防的投与による脳保護効果が認められた。これは脳梗塞既往症例に対する弓部大動脈手術への臨床応用が期待され、今後の手術成績の向上に寄与するものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

申請者らの教室では大動脈弓部全置換術における脳保護法として順行性選択的脳灌流法(ASCP)を用い良好な成績をあげているが、術後中枢神経機能障害をゼロにすることは困難であり、さらなる成績改善を求めて研究を進めている。これまでの臨床経験から、脳梗塞の既往が術後障害の独立した危険因子であることがわかっている。申請者らのグループでは、独自に開発したイヌ慢性脳梗塞モデルを用いた実験により、ASCPにおいて復温中に嫌気性代謝が亢進し、血液中グルタミン酸濃度が上昇することを示してきた。また低体温中のpH管理にalpha-statを用いた場合、復温中にフリーラジカルのマーカーであるmalondialdehyde (MDA)の血液中の濃度が上昇し、神経機能の指標である体性感覚誘発電位(SEP)が障害されることも明らかになった。これらの結果よりイヌ慢性脳梗塞モデルにおいては、虚血・再灌流に伴い脳梗塞巣周囲に生じるフリーラジカルに起因する神経細胞障害が術後中枢神経機能障害の一因と推測された。近年、脳梗塞急性期治療薬としてfree radical scavengerのエダラボンが臨床使用されている。そこで今回の研究ではイヌ慢性脳梗塞モデルを用いたASCPにおけるエダラボンの予防的投与の効果を検討した。

シリコン円柱の左内頸動脈内注入法により、イヌ左中大動脈領域選択的脳梗塞モデルを作製、12時間後に一過性の重度の右麻痺を示した動物で4週以上生存したものを脳梗塞群とした。正常対照群(A、B群)および脳梗塞群(C、D群)それぞれ12頭に対し、人工心肺を用いたASCP(直腸温20℃、灌流量10 ml/

kg/min)を120分間施行した後に36℃まで復温し、各群半分の動物には冷却直前と冷却開始30分後にそれぞれエダラボン1.5 mg/kgを体外循環内に投与し(エダラボン群、B、D群)、残りの半分には生理的食塩水を投与した(非エダラボン群、A、C群)(各群ともn=6)。生化学的評価として血液中のMDA、hexanoyl-lysine (HEL)、グルタミン酸濃度を経時的に定量し、中枢神経系の機能的評価としてSEPを測定し中枢伝道時間(CCT)および振幅(N4/N1比)を解析した。

エダラボンを投与していない脳梗塞群(C群)では、復温中に動静脈乳酸較差の拡大と血液中グルタミン酸濃度の上昇が観察され、さらにSEPのCCTの延長とN4/N1比の低下を認めた。これらの結果は以前の実験結果を再現している。さらにC群ではASCP 120分後よりフリーラジカルのマーカーであるMDAおよびHELの血液中濃度の有意な上昇を認め、復温に伴いその差は拡大した。一方、エダラボンを投与した脳梗塞群(D群)では、これらの変化は対照群と有意差が認められないレベルまで改善した。

慢性脳梗塞モデルを用いたASCPにおいては、復温中より血液中HEL、MDAおよびグルタミン酸濃度が上昇し、動静脈乳酸較差が拡大し、電気生理学的にも中枢神経機能障害が起こることが示された。これらの結果より同モデルにおいてはASCP後に嫌気性代謝が亢進し、神経細胞障害が発生することが考えられる。因果関係は必ずしも明らかではないが、エダラボン投与によりASCP後の血液中HELおよびMDA濃度の上昇が有意に抑制され、中枢神経機能が改善されたことは、脳梗塞巣周囲のパナンプラ領域において虚血・再灌流によって過剰発生したフリーラジカルを消去することが、神経細胞障害の軽減につながった可能性を示唆している。

審査委員会では、申請者らのグループによる一連の慢性脳梗塞モデルを用いた研究が、独自のものであり、臨床への応用性が高いものであることを評価した。また脳梗塞モデルのフリーラジカル産生のマーカーとして初めてHELを測定したことも評価された。本研究、さらに今後の継続研究によりASCP後の中枢神経機能障害の発生機序が解明されることにより、手術成績のさらなる向上が期待される。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) 動物実験における倫理的配慮について
- 2) 本モデルにおいて適切な脳梗塞ができる確率について
- 3) 血液中のMDA、HEL、グルタミン酸は脳内の変化をどれくらい反映するのか
- 4) 髄液中のグルタミン酸濃度について
- 5) 本実験における麻酔薬の影響について
- 6) エダラボンの投与タイミングと投与量について
- 7) エダラボンはアニオンとして細胞膜を通過するのか
- 8) エダラボンの作用とpHの関連について
- 9) 組織学的検索でエダラボンの効果が認められなかった理由について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文に相応しいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 難波宏樹  
副査 佐藤重仁 副査 福田敦夫