

論文の要旨

申請者 藤 井 和 也

研究論文題目

ラットくも膜下出血モデルに対するマグネシウム脳槽内投与および飽和水素水経静脈投与の治療効果に関する検討

1 目 的

くも膜下出血 (subarachnoid hemorrhage: SAH) は死亡率が約 30%とも推定される予後不良の疾患である。特に重症例は、生命・機能予後が極めて悪く、有効な治療手段が確立していない。

SAH の出血源の治療後、遅発性に、かつ虚血に起因すると考えられる神経症状の悪化が出現することがあり、遅発性脳虚血 (delayed cerebral ischemia: DCI) と呼ばれる。長年 DCI の主原因は、SAH に合併する遅発性脳血管攣縮とされてきた。治療の進歩もあり、脳血管攣縮の出現頻度は減少しているものの、DCI の克服には至っていない。

マグネシウム (Mg) は脳血管攣縮抑制作用、および脳保護作用を持つとされる。しかし、Mg の静注療法を用いた臨床試験では、DCI の抑制や予後の改善効果はないと報告された。原因として Mg は血液脳関門 (blood-brain barrier: BBB) を通過し難いため、静脈投与では髄液中の Mg 濃度が有効域に到達しないまま、血中 Mg 濃度が上昇し、血圧低下等の全身副作用が出現する可能性が示唆された。そこで Mg の脳槽内投与を用いた臨床試験が行われた。Mg を脳槽内投与することで、血中 Mg 濃度を大きく上昇させることなく、髄液中の Mg 濃度を有効域まで到達させ、脳血管攣縮の抑制効果を得ることができた。しかし患者の転帰は有意に改善せず、血管攣縮の抑制のみでは DCI の抑制には不十分な可能性が示唆された。

近年 DCI を引き起こす、血管攣縮以外の病態も研究されており、early brain injury (EBI) もそのひとつとして注目されている。EBI は SAH 発症時の全脳虚血や脳腫脹、

それらに引き続く頭蓋内圧 (intracranial pressure: ICP) の亢進状態によって引き起こされる病態の総称であり、主にアポトーシスの機序を介して神経細胞死や BBB の破綻を引き起こすとされる。この病態の中でも、特に酸化ストレスが重要視されている。

水素は強力な抗酸化作用を持つと同時に、生体内で安全に、かつ素早く組織に行きわたり効果を発揮するため、EBI 抑制の手段として注目を集めている。

本研究は重症 SAH 動物モデルにおいて、Mg による遅発性脳血管攣縮の抑制効果と、水素による EBI の抑制効果に期待し、Mg 脳槽内投与と水素の全身的投与を併用することで、生命、機能予後を改善できるかについて検討することを目的とした。

SAH 動物モデルの作成方法はいくつか報告されているが、いずれも重症度の個体差が大きいことが知られている。病態の把握や治療効果の検討を正確に行うために、まず EBI の病態を十分に反映する重症 SAH モデルの作成方法について検討した (実験 1)。次に、上記で得られたモデルに対して Mg 脳槽内投与と水素水静脈内投与を行い、その効果について検討した (実験 2)。

2 実験 1: 重症 SAH モデルの作成方法についての検討

(方 法)

SAH の重症度を評価する手段として、SAH 発症時の ICP の急上昇に着目し、ICP の最高値と生命・機能予後、および EBI の病態についてラットを用いて検討した。SAH モデルの作成方法のなかでも、重症例の頻度が高いとされる monofilament perforation model を用いて、SAH 発症時の ICP と 24 時間後の死亡率、神経機能を評価した。また摘出脳を用いて SAH の血腫量、組織所見を評価した。

(結 果)

SAH 発症 24 時間後の血腫量に基づいた grade、および神経機能のスコアと、SAH 発症時の ICP には強い相関関係が認められた。SAH 発症時の ICP に基づいて mild 群 (50mmHg 未満)、moderate 群 (50~149mmHg)、severe 群 (150mmHg 以上) に分け

て比較評価すると、死亡率は mild 群 11.1%、moderate 群 37.1%、severe 群 73.9%となり、各群間には有意差を認めた。また摘出脳の組織所見では脳皮質、および海馬に酸化ストレス傷害を伴う、神経細胞のアポトーシスを認めた。この所見は特に moderate 群で著明であった (severe 群は生存動物数が少なく集計できなかった)。

(考 察)

上記結果から、EBI の病態について研究するには moderate 群が適当と考えた。酸化ストレスやアポトーシスといった、early brain injury の病態をあまり反映しない軽症例や、急死の可能性が非常に高い重症例を除外することで、公正かつ効率的に病態や治療効果についての検証できると考えた。

3 実験2: 重症 SAH ラットモデルに対する Mg 脳槽内投与、飽和水素水経静脈投与の効果についての検討

(方 法)

実験1の結果から、moderate 群に入る動物を選別して用いることとした。ラットを用いて monofilament perforation model を作成し、ICP が 50～149mmHg に到達する動物を用いて各治療の効果について比較検討を行った。SAH に対照治療を行う群 (control 群)、Mg 脳槽内投与を行う群 (Mg 群)、飽和水素水経静脈投与を行う群 (H 群)、併用療法を行う群 (H + Mg 群)、および SAH を発症させない群 (sham 群) の計5群に分けて比較検討した。静脈内投与する水素水は濃度が 1.6ppm の飽和水素水を使用した。これは大気圧で、水素が水に溶解する飽和濃度である。各治療は SAH 発症30分後から30分かけて行い、SAH 発症24時間後の死亡率、神経機能を評価した。また摘出脳を用いて各種評価を行った。

(結 果)

死亡率は control 群で 40.0%、Mg 群で 25.7%、H 群で 20.0%、H + Mg 群で 14.3%であり、水素投与群 (H 群および H + Mg 群) の死亡率は control 群と比較して有意に低

かった。神経機能評価においては、水素投与群は control 群と比較して有意にスコアが高かった。また H + Mg 群は Mg 群と比較して有意にスコアが高く、有意差はないものの H 群と比較してスコアが高い傾向が見られた (P = 0.054)。

組織学的評価において、control 群では脳皮質と海馬の広範囲に酸化ストレスを伴う、神経細胞のアポトーシスを認めた。一方、水素投与群では 8-OHdG 染色 (DNA 酸化損傷マーカー) 陽性細胞が著明に減少しており、皮質と海馬の両方でアポトーシスの抑制も認められた。また水素投与群においては BBB の破綻抑制や脳浮腫の軽減も認めた。

脳血管攣縮の評価において、SAH 発症群では中膜の肥厚や血管内腔の狭小化といった、遅発性脳血管攣縮と類似する所見を認めた。Mg 群および H + Mg 群では血管径の拡張効果と血管壁の肥厚抑制効果を認めた。

(考 察)

水素には強力な抗酸化作用があり、アポトーシスの抑制効果、BBB の破綻抑制と脳浮腫の軽減効果が得られ、EBI を抑制した。その結果死亡率や神経機能の改善が得られたと考えた。また Mg を脳槽内投与することにより、血管攣縮の抑制効果を得られた。特に Mg 脳槽内投与と飽和水素水経静脈投与の併用群は、生存率が最も高く、また神経機能評価においても最もスコアが高かったが、有意差は認めなかった。

4 結 論

ラットくも膜下出血モデルの作成において、

- ・ くも膜下出血発症時の頭蓋内圧は予後を規定する重要な因子であった。
- ・ 研究目的に適した重症度の選別、また確実にくも膜下出血を発症させるためには、モデル作成時の頭蓋内圧の計測が非常に有用である。

ラットくも膜下出血モデルに対するマグネシウム脳槽内投与および飽和水素水経静脈投与は、

- ・ ①水素による酸化ストレスの軽減、②マグネシウム脳槽内投与による脳血管攣縮

の抑制によって生命、機能予後を改善させた。また、併用による相互作用や有害事象は特に認めなかった。

- これらの併用療法は、重症くも膜下出血の治療成績を向上させる新たな治療手段となる可能性はあるが、さらなる検討も必要である。