



Title	脳虚血再灌流障害に対する局所脳冷却灌流療法と人工酸素運搬体HemoAct併用の脳保護効果に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	伊藤, 康裕
Description	配架番号 : 2502
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14040号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77953
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yasuhiro_Ito_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 伊藤康裕

学 位 論 文 題 名

脳虚血再灌流障害に対する局所脳冷却灌流療法と人工酸素運搬体 HemoAct 併用の脳保護効果に関する研究

(Studies on neuroprotective effect of combination therapy of regional cold perfusion and hemoglobin-based oxygen carrier HemoAct for ischemic-reperfusion injury)

【背景と目的】

我々はこれまで局所冷却灌流と人工酸素運搬体(HemoAct)投与の各々の治療法が虚血再灌流傷害に対し神経保護効果を持つことを示してきた。今回はこの 2 つの治療法の併用がより強い神経保護効果を示すか否かを検討した。

【方法】すべての実験においてオスの S D ラット(体重 290-330g)を使用した。虚血再灌流障害は糸栓子を用いた一過性中大脳動脈閉塞モデルを使用した。薬液投与は再開通時に右内頸動脈よりシンリンジポンプを用いて投与した。

1)併用療法の脳保護効果の検討

併用療法は 10 度に冷却した人工酸素運搬体 HemoAct をラット一過性中大脳動脈閉塞モデルの再開通時に経動脈的に投与し、二つの単独療法（10 度生理食塩水投与、37 度 HemoAct 投与）、未治療コントロールと比較検討した(各々n=7)。検討項目は神経障害度、脳梗塞、脳浮腫の体積（%）、脳血流の経時的変化、血液脳関門破綻の程度である。脳梗塞体積、脳浮腫体積の検討には 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC)染色を用いた。また血液脳関門(BBB)の破綻の程度は rat-IgG の免疫染色を行うことで検討した。

2)併用療法の脳保護効果の持続性の検討

100 分虚血/7 日再開通における併用療法群（n=8）の効果持続性を未治療コントロール群（n=8）と比較検討した。検討項目は日々の神経障害度と再開通 7 日目の時点での脳梗塞体積である。脳梗塞の体積は Nissl's 染色で行った。

3)併用療法の Therapeutic time window の検討

虚血時間を 4 時間、5 時間、6 時間と延長しそれぞれ併用療法群(n=8)と未治療コントロール群(n=8)における神経障害度の評価と再開通 24 時間の時点での出血性変化の程度を比較検討した。神経障害度は死亡が概念として含まれる 6-point scale を用い、出血性変化は摘

出脳の線条体を含む冠状の $4\mu\text{m}$ の薄切切片を HE 染色し評価した。観察された出血点の長計によって 1 点から 3 点に分類し、各々の出血点の個数を掛け合わせ合計スコアを算出した。

【結果】

1) 併用療法の脳保護効果の検討

2 時間虚血/24 時間再灌流での検討では、神経障害度スコアは 3 つの治療群ともコントロール群に対して優位に改善したが、3 治療群間で差が無かった。梗塞体積は未治療コントロール群で $44.7\pm 6.9\%$ であったのに対し、 10°C 生食単独療法群 $20.7\pm 10.2\%$ 、 37°C HemoAct 単独療法群 $24.9\pm 3.9\%$ 、 10°C HemoAct 併用療法群 $12.3\pm 11.9\%$ と全ての群で有意な脳梗塞縮小効果があった。また単独療法群と併用療法群間の比較では 10°C HemoAct 併用療法群は各単独療法群群と比して約 1/2 の梗塞縮小効果を確認した。また脳浮腫の体積についても同様の結果であったが、統計学的な差は未治療コントロール群と 10°C HemoAct 併用療法群の間のみ見られた。BBB の破綻の程度においては併用療法で最も抑制されていた。

2) 併用療法の脳保護効果の持続性

Day 0 から Day7 までの神経障害度はすべての日で併用療法群が有意に良好な結果となっており、また Nissl's 染色での Day7 における梗塞の体積も未治療コントロール群は平均 49% に対し、併用療法群は 21% と有意に梗塞の縮小効果を認めた。

3) Therapeutic time window の検討

虚血時間を延長した 4、5、6 時間虚血/24 時間再灌流モデルの検討では、4、5 時間虚血においては神経障害度の有意な改善を認めた。出血性変化については 4 時間虚血、5 時間虚血における未治療コントロール群の平均出血スコアは各々 21.1、36.5 であったが 10°C HemoAct 併用療法群では 4、5 時間虚血での出血のスコアは 10.6、19.4 と有意に出血性変化を抑制した。このことから併用療法は 5 時間の therapeutic time window が期待でき、虚血再灌流傷害の有効な治療法になりうる可能性を示した。

【考察】

本研究により、脳局所冷却灌流療法と HemoAct の併用療法は強力な神経保護効果を示した。脳局所冷却灌流療法は、虚血再灌流障害における微小血管の狭小化、血液脳関門の破綻、炎症反応を防ぎ、HemoAct は $15\mu\text{m}$ という小ささからたとえ狭小化した微小血管でも通過することができ効率的な酸素運搬が可能である。また本治療法の Therapeutic time window は 5 時間となり過去の同様の報告の中で最長の結果であった。

【結論】

10°C HemoAct 併用療法は急性期脳梗塞における新たな治療の選択肢となり得ると考えられた。

