

氏名・(本籍)	椎野 顯彦 (神奈川県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	論医博第73号
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位授与年月日	平成2年12月21日
学位論文題目	局所脳虚血に対する薬物の脳保護作用に関する実験的研究 1) 局所脳虚血に対する薬物の脳保護作用に関する実験的研究 Part 1 : ラット局所脳虚血モデルの基礎的検討 2) 局所脳虚血に対する薬物の脳保護作用に関する実験的研究 Part 2 : ラット局所脳虚血に対するカルシウム拮抗剤の治療効果

審査委員	主査 教授	戸田 昇
	副査 教授	半田 譲二
	副査 教授	挾間 章忠

論文内容要旨

〔目的〕

近年、虚血性脳障害に対するカルシウム拮抗薬の効果が実験的・臨床的に検討されているが、その有効性に関してはまだ見解の一致をみていない。本研究ではまずラットを用い中大脳動脈閉塞による局所脳虚血モデルの基礎的検討を行ない、ついで脳虚血発生後の投与によるカルシウム拮抗薬の効果を検討した。

〔方法〕

雄性 Sprague-Dawley rat (SDR) および spontaneously hypertensive rat (SHR) の中大脳動脈をハロセン吸入麻酔下に閉塞した。SDRは中大脳動脈の閉塞部位によりそれぞれ外側、内側、縦列、分枝閉塞群、および下大脳静脈部閉塞群の5群に分類した。SHRでは、嗅索の外側縁で中大脳動脈を閉塞した。麻痺の程度を4階段に分類し、中大脳動脈を閉塞してから24時間神経症状を観察した。閉塞24時間後、脳の冠状断切片をtriphenyltetrazolium chlorideで染色し梗塞巣の面積を計測した。

カルシウム拮抗薬の効果の検討には、先の各モデルのうち、確実に梗塞巣の作製が可能な分枝閉塞モデルを用いた。カルシウム拮抗薬としては、KB-2796 および Nifedipine を用い、腹腔内

にそれぞれ 10 mg/kg、1 mg/kg 投与した。KB-2796 投与群は、中大脳動脈閉塞直後投与、1 時間後投与、3 時間後投与の 3 群とし、Nicardipine は閉塞直後投与のみ行った。対照群では同量の溶媒を投与した。24 時間に亘り神経症状を観察し、24 時間目の梗塞巣の大きさを測定した。更に KB-2796 投与群の 1 部で中大脳動脈閉塞 1 時間後の局所脳血流量を ^{14}C -iodoantipyrine 法により測定し、血流量の変化を対照群と比較した。

〔結果〕

ラット局所脳虚血モデル：中大脳動脈の閉塞から 24 時間後の麻痺の強さと大脳外套部の梗塞巣の大きさはよく相関した。外側、縦列閉塞群の梗塞巣の出現が低率であったのに対し、分枝閉塞、下大脳静脈部閉塞群、及び SHR においては比較的高頻度で、かつ均一な大脳外套部の梗塞巣が認められた。内側閉塞群では、主に穿通枝領域の梗塞巣が認められた。神経症状の推移：KB-2796 投与群は、直後、1 時間後、3 時間後のいずれの投与群においても対照群に較べ有意な神経症状の回復が認められた。Nicardipine 投与群は、対照群に較べ統計学的に有意な麻痺の改善は得られなかった。梗塞面積：KB-2796 直後投与群、1 時間後投与群において、統計学的に有意な梗塞面積の縮小が認められたが、3 時間後投与群では、有意な梗塞巣の縮小は得られなかった。Nicardipine 投与群では、対照群に較べ梗塞面積は縮小傾向を示したが、統計学的に有意な差ではなかった。局所脳血流量：虚血 1 時間後の局所脳血流量の測定で、閉塞側の大脳皮質部に広範な血流低下が認められ、KB-2796 投与により有意な虚血域血流の増加が認められた。

〔考察〕

梗塞の発生頻度や大きさのばらつきは薬物の治療効果の判定に際し大きな障害になる。今回の基礎検討から、中大脳動脈の閉塞部位のわずかな差が、梗塞発生率、梗塞の大きさや部位に大きな影響を与えることが明らかとなった。SDR の分枝閉塞群は梗塞面積のばらつきや手術侵襲が少なく、SHR よりも麻痺の程度が軽く、治療効果の判定に最適と思われた。

脳虚血の初期におけるアラキドン酸代謝産物や過酸化脂質の生成による一連の悪循環は、細胞内へのカルシウムの蓄積が引き金になると言われている。この説が正しいとすれば、虚血発生前あるいは虚血の初期にカルシウム拮抗薬を投与することにより、脳細胞障害を防ぐことが理論的に期待できる。Nicardipine や KB-2796 がラット断頭後の脳の遊離脂肪酸生成を抑制すること、神経細胞の低酸素負荷に対して保護作用を有すること、また局所脳グルコース利用率改善作用を有する事実などは、これらの薬物の脳保護作用を支持するものと考えられる。

脳虚血急性期におけるカルシウム拮抗薬の投与は、虚血部周辺の血管拡張に伴う steal phenomenon の発生を懸念させるが、今回の ^{14}C -iodoantipyrine 法による血流測定の結果では、KB-2796 による逆説的な血流低下は認められず、むしろ虚血部の血流増加が観察された。今回の実験の範囲内で KB-2796 の作用機序を結論することは不可能であるが、血流測定の結果や KB-2796 が容易に脳血液関門を透過することを考慮すると、KB-2796 の治療効果は、脳循環改善作用および脳保護

作用の双方によるものと推測される。

今回の実験において、局所脳虚血に対する治療効果は Nicardipine よりも KB-2796 においてより優れた結果であったが、その理由の 1 つとして脳血管に対する選択性の差や作用持続時間の差、血液脳関門の透過性の差などがあると思われる。

〔結論〕

局所脳虚血モデルとしてラット中大脳動脈閉塞法を確立した。同モデルを用いた実験において、少なくともある種のカルシウム拮抗薬は虚血発生後の投与においてもなお治療効果のあることが示された。

学位論文審査の結果の要旨

近年、虚血時の脳組織障害に細胞内へのカルシウムの流入が重要な役割を担っているとの考えから、脳虚血の治療としてカルシウム拮抗薬に期待がもたれている。しかしこれ迄の基礎的・臨床的な検討で、その有効性に関していまだ見解の一致をみていない。

本研究では、まず Sprague-Dawley (SD) ラットと高血圧自然発症ラット (SHR) の中大脳動脈の分枝の状態を観察し、これを分類した。次に SD ラットと SHR の中大脳動脈を種々の部位で手術的に閉塞し、梗塞発生率、梗塞部位、梗塞巣の大きさおよび神経症状を詳細に比較観察した。その結果、(1) SD ラットで中大脳動脈の閉塞部位のわずかな差が、梗塞発生率、梗塞部位、梗塞面積、神経症状に大きく影響すること、(2) 麻痺の強さは、大脳外套の梗塞巣の大きさと相関すること、(3) SHR では、中大脳動脈の閉塞により SD ラットにおけるよりもはるかに大きい梗塞巣を生じ、麻痺は強く、改善傾向がみられないことが明らかになった。以上の実験において、SD ラットの中大脳動脈を嗅索の外側縁でその分枝を含めて閉塞する「分枝モデル」は、梗塞発生率が高く、かつ麻痺が除々に改善するなど、薬物の治療効果を調べる上に適当であることが結論された。したがって、このモデルを用いて脳虚血急性期におけるカルシウム拮抗薬 (KB-2796 とニカルジピン) の有用性を検討した。

その結果、脳虚血作成直後のみならず、虚血後 1 時間と 3 時間目の投与においても、KB-2796 は有意に神経症状を改善し、梗塞巣の大きさも縮小した。また、KB-2796 は、虚血部周辺の血流量を増加した。これらの結果から、KB-2796 の効果は、脳循環改善作用と脳保護作用の 2 つの作用機序によるものと推測した。他方、ニカルジピンでは麻痺改善、梗塞巣縮小の効果は見られなかった。

本研究は、脳虚血急性期のカルシウム拮抗薬投与が盗血現象をひきおこさずに脳循環を改善すること、同拮抗薬が虚血発生数時間以内の投与においても有効であることを示し、脳虚血の臨床治療におけるカルシウム拮抗薬の有用性を示唆した興味あるものであり、学位を授与するに値す

るものと認められた。