

## 主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

嗟峨根 正展

専攻分野：外科学

コース：心臓血管外科

指導教授：宮入 剛

主論文の題目：

ウサギの脊髄虚血におけるエダラボン®の予防的効果の検討

共著者：

千葉 清、杵渕 聡志、北 翔太、盧 大潤、古川 浩、  
北中陽介、土居 正知、高木 正之、宮入 剛

### 緒言

胸部下行大動脈・胸腹部大動脈瘤手術における術後対麻痺に対し、我々は虚血再灌流後にエダラボンを投与することによる脊髄保護効果を検証してきたが、今回再灌流前のみ投与することでも脊髄保護効果があるか否かを検証した。

### 方法・対象

日本白色種のウサギ 18羽(雄, 平均体重  $2.8 \pm 0.6$ kg)を対象とした。ウサギをネンブタール(1.5mg/kg)の静脈内投与で麻酔導入し、腹部正中切開を行い腹部大動脈を25分間遮断しその後遮断を解除して再灌流させた。腹部は2層に閉創し、飼育籠で経過観察した。7日後に同様の麻酔を行い、左第4肋間で開胸した。下行大動脈よりホルマリン溶液を注入して脊髄を灌流固定した。第1から第7腰髄を摘出し、ホルマリン液に24時間以上つけた。そののち切り出し面の変形を防ぐため、アルコールにつけて脱水させ、パラフィン包埋切片を作成し

た。

・シャム群(S群、n=3)：麻酔およびすべての外科処置を行うが、大動脈遮断を行わない群。

・生食投与群(N群、n=5)：大動脈遮断直前に生理食塩水の静脈内投与を行う群。

・エダラボン投与群(E群、n=5)：大動脈遮断直前にエダラボン 3mg/kgの静脈投与を行う群とした。

#### 測定項目

1) 下肢運動機能：24 時間後、48 時間後、1 週間後に Modified Tarlov' s score(0:no movement of lower limbs, 1:slight movement of lower limbs, 2:sits with support, 3:sits alone, 4:weak hop, 5:normal hop) を用いて下肢運動機能を臨床的に判定した。

病理切片の作成を行い、各々の群で、脊髄神経細胞の形態学的変化はどのように生じているかを評価した。

#### 2) 組織検査

Hematoxylin-Eosin(HE)染色にて神経細胞・グリア細胞・血管の変化(核と核小体の区別の消失, halo の出現, Nissl 小体の消失, 核の変性・偏在, 炎症細胞の浸潤)をみた。

Klüver-Barrera(KB)染色にて Nissl 小体の消失を評価した。

Glial fibrillary acid protein(GFAP)染色にて星状膠細胞の足突起の分布や足突起の変性・消失を評価した。

アクアポリン4染色にて、星状膠細胞の足突起における染色強度を評価した。

また、脊髄1横断面あたりの前角細胞における正常神経細胞数および虚血・梗塞に陥った神経細胞数をカウントしてそれぞれの群間比較をした。

結果は平均±標準偏差で表し、統計学的解析は Stat View4.0 を用いて行った。Modified Tarlov' s score および1横断面あたりの脊髄前角細胞における正常細胞数および虚血・壊死に陥った細胞数の比較は分散分析およびポストホックテストとして Scheffe 法を用いた。P<0.05 を有意差ありとした。

この実験は聖マリアンナ医科大学大学院実験動物飼育管理研究施設

動物実験委員会の承認(第 1406016 号)を受け、「聖マリアンナ医科大学動物実験規定」、「聖マリアンナ医科大学大学院実験動物飼育管理研究施設 動物実験実施指針」及び法規を遵守して行った。

## 結果

【下肢運動機能評価】 Modified Tarlov' s score の統計学的解析では、24 時間後では S 群は N 群より有意に高値であった ( $P=0.01$ ) が、S 群と E 投与群 ( $P=0.11$ )、N 群と E 群 ( $P=0.25$ ) の間で有意差は認めなかった。48 時間後では S 群は N 群より有意に高値であった ( $P=0.01$ ) が、S 群と E 群 ( $P=0.69$ )、N 群と E 群 ( $P=0.05$ ) の間で有意差は認めなかった。7 日後では S 群は N 群より有意に高値であった ( $P=0.01$ ) が、S 群と E 群 ( $P=0.69$ )、N 群と E 群 ( $P=0.05$ ) の間で有意差は認めなかった。

### 【HE 染色】

S 群ではわずかに虚血障害を呈した神経細胞を認めたがほぼすべて正常な脊髓細胞像を示した。N 群は脊髓神経細胞が高度に障害されている像を示した。E 群は、神経細胞が保持されており、生食投与群と比較して障害の程度が極めて軽度であった。

### 【KB 染色】

S 群と E 投与群は Nissl 小体が保たれているが、N 群では消失していた。

### 【GFAP 免疫染色】

N 群で反応性の gliosis を認め、E 群においても形態は比較的保たれているものの反応性の gliosis を認め、虚血を反映していると考えられた。

### 【アクアポリン 4 免疫染色】

N 群では神経細胞が死滅しているため、梗塞巣ではほとんどアクアポリン 4 は染色されなかったが、梗塞巣周囲において発現を認めた。E 群では、全体的にアクアポリン 4 の発現を認めた。

### 【神経細胞数の比較】

正常神経細胞数の比較では S 群が N 群よりも ( $P=0.01$ )、E 群が N 群よりも ( $P=0.04$ ) 有意に高値であったが、S 群と E 群の間 ( $P=0.11$ ) に有意差

を認めなかった。虚血・梗塞に陥った細胞数ではS群がN群よりも有意に低値であった( $P=0.01$ )が、S群とE群の間( $P=0.19$ )、N群とE投与群の間( $P=0.05$ )に有意差を認めなかった。虚血・梗塞に陥った細胞数/正常細胞数では3群間に有意差は認めなかった。

#### 考察

下肢運動機能評価において、3群間の比較ではS群はN群より有意に高値であったのに対してS群とE群では有意差はみられなかったことから、エダラボンの有効性が示唆された。病理学的な評価では、正常細胞数、虚血・梗塞に陥った細胞数いずれの比較でも、S群とE群の間に有意差を認めなかったが、N群はE群よりも有意に細胞障害が高度であり、エダラボンの有効性が示唆される結果と考えられた。

#### 結論

ウサギの脊髄虚血モデルにおいて大動脈遮断前のエダラボン予防投与群は、生食投与群と比較して、下肢運動機能の低下を予防する傾向を示した。