

Nicorandil (ATP-sensitive potassium channel opener)

の家兎における脊髄虚血に対する保護効果

学位論文内容の要旨

【背景】大動脈遮断に伴う虚血性脊髄障害は依然として大動脈手術の重篤な合併症である。脊髄障害を生ずる要因の一つに虚血再灌流障害があり、これを軽減するため血管再建手技や補助手段法に加え、薬剤投与による脊髄保護が臨床的にも実験的にも追求されてきた。Ischemic preconditioning (IPC) の保護効果は主に心臓と脳で研究が確立されてきたが、脊髄においてもその有効性が報告されている。ATP-sensitive potassium channels (ATP-Ks) は、脳、脊髄を含む他の臓器にも存在する。また、心臓や脳に対する ATP-K opener の作用は IPC によりえられる効果に似ており、その阻害薬は IPC の効果を抑制することも報告されている。しかし、脊髄においては ATP-K opener の保護効果を検討した報告はない。

本研究の目的は、ATP-K opener である nicorandil による脊髄虚血再灌流後の神経細胞と神経学的機能の保護効果を検討することにある。

【材料と方法】家兎の腎動脈下腹部大動脈を体温 39℃ 下で 15 分間バルーンで遮断することにより得られる脊髄虚血モデルを用いた。家兎は 4 群に分類された (各 n=6) ; nicorandil 群 (虚血 10 分前に 100 μ g/kg 静注), glibenclamide (nicorandil の阻害薬) + nicorandil (G+N) 群 (nicorandil 投与 10 分前に glibenclamide 3mg/kg 静注), vehicle 群, 対照群 (脊髄虚血なし)。虚血前の動脈血ガスおよび血糖値測定を行い、術中心拍数, 中枢側および末梢側平均血圧, 心拍数, 体温を持続モニターし記録した。神経学的機能評価として, Johnson の方法によって 8 時間後, 1 日後, 2 日後に 5 段階評価を行った。また, 神経学的機能評価後に家兎を犠牲死させ脊髄を摘出, 固定し, HE 染色を行い組織病理学的観察を行い, 運動神経細胞数を数えた。

【結果】虚血前の動脈血ガスおよび血糖値に 4 群間で有意差は無かった。心拍数と中枢側平均血圧は各時点で 4 群間に有意差は無かった。脊髄虚血の 3 群では末梢側平均血圧はバルーン拡張後 20mmHg 以下に低下した。バルーン拡張中は直腸温は平均 1℃ 低下したが再灌流後 10 分以内に平常値に戻った。各時点で

これらの3変数に3群間で有意差は認めなかった。神経学的機能はG+N群とvehicle群のJohnsonスコアは、対照群とnicorandil群と比較して各時点で有意に低かった。組織病理学的所見ではnicorandil群では神経細胞は殆ど正常であり、一方G+N群とvehicle群では、有意な運動神経細胞数の減少と細胞萎縮などの変化が認められた。

【考察】 この研究の結果は、虚血前のnicorandilの静注により、家兔の脊髄運動細胞と運動機能に対する保護効果が得られ、その効果がglibenclamideの事前投与により抑制されたことを示している。nicorandilはATP-K openerとnitrateとしての2種の混合作用を持つ薬剤であるが、nicorandilの保護効果はglibenclamideによって完全に阻害されたので、ATP-Kを介する作用であると考えられる。またその機序は、中枢側、末梢側の血圧に3群間で差がなかったことから、血管拡張作用よりも神経細胞のATP-Kに対する直接的作用を通して起こっていると考えられる。ATP-K openerの虚血脊髄における有益な効果の基礎となるメカニズムは明らかにされていない。脳においてはATP-K openerの保護効果は、少なくとも一部はシナプス終末の過分極による虚血時のグルタミン酸の放出の抑制と、シナプス後グルタミン酸感受性神経細胞の過分極によるグルタミン酸の細胞障害性の減少と考えられている。本研究においても同様のメカニズムの関与も考えられる。また、ミトコンドリアATP-Kの活性化が心筋や脳の保護作用を示す報告があり、脊髄におけるnicorandilの保護効果もミトコンドリアATP-Kを通して起こっている可能性がある。脊髄においては選択的ミトコンドリアATP-K openersを用いたさらなる研究が要求される。

【結論】 nicorandilの脊髄虚血前投与は、虚血再灌流後の神経細胞と神経学的機能を保護した。ATP-Kの阻害薬であるglibenclamideの事前投与によりその効果が抑制されたことから、その機序はATP-Kを介するものと考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 安 田 慶 秀
副 査 教 授 北 畠 顕
副 査 教 授 田 代 邦 雄

学 位 論 文 題 名

Nicorandil (ATP-sensitive potassium channel opener) の家兎における脊髄虚血に対する保護効果

大動脈遮断に伴う虚血性脊髄障害は依然として大動脈手術の重篤な合併症であり、これを軽減するため血管再建手技や補助手段法に加え、薬剤投与による脊髄保護が臨床的にも実験的にも追求されてきた。

本研究の目的は、ATP-K opener である nicorandil による脊髄虚血再灌流後の神経細胞と神経学的機能の保護効果を検討することにある。

家兎の腎動脈下腹部大動脈を体温 39℃ 下で 15 分間バルーンで遮断することにより得られる脊髄虚血モデルを用いた。実験は以下の 4 群で、各群 6 羽の家兎を用いた。すなわち、nicorandil 群（虚血 10 分前に nicorandil 100 μ g/kg 静注）、G+N 群（glibenclamide+nicorandil；nicorandil 投与 10 分前に nicorandil の阻害薬である glibenclamide 3mg/kg 静注）、vehicle 群、対照群（脊髄虚血なし）である。虚血前の動脈血ガスおよび血糖値測定を行い、術中心拍数、中枢側および末梢側平均血圧、心拍数、体温を持続モニターし記録した。神経学的機能評価は、8 時間後、1 日後、2 日後に Johnson の方法による 5 段階評価を行った。また、神経学的機能評価後に家兎を犠牲死させ脊髄を摘出、固定し、HE 染色を行い組織病理学的観察を行い、運動神経細胞数を数えた。

結果は、虚血前の動脈血ガスおよび血糖値に 4 群間で有意差は無かった。心拍数と中枢側平均血圧は各時点で 4 群間に有意差は無かった。脊髄虚血の 3 群では末梢側平均血圧はバルーン拡張後 20mmHg 以下に低下した。バルーン拡張中は直腸温は平均 1℃ 低下したが再灌流後 10 分以内に平常値に戻った。各時点でこれらの 3 変数に 3 群間で有意差は認めなかった。神経学的機能は G+N 群と vehicle 群の Johnson スコアは、対照群と nicorandil 群と比較して各時点で有意に低かった。組織病理学的所見では nicorandil 群では神経細胞は殆ど正常であり、一方 G+N 群と vehicle 群では、有意な運動神経細胞数の減少と細胞萎

縮などの変化が認められた。すなわち、脊髄虚血前に nicorandil を静注することにより、家兎の脊髄運動細胞と運動機能に対する保護効果が得られ、その効果が glibenclamide の事前投与により抑制された。以上より nicorandil の脊髄保護作用は、ATP-K を介する直接的作用によるものと考えられた。この直接作用が細胞膜 ATP-K またはミトコンドリア ATP-K のいずれへの作用であるかを判別するため、選択的ミトコンドリア ATP-K opener である diazoxide とその阻害薬 5-HD などを用いた更なる研究が必要であると考察された。

論文発表に対し、副査の北島教授から臨床的にこれまで脊髄障害の発生率低下に寄与してきた方法と他の薬剤との比較を含めて臓器保護における nicorandil の位置付け、副査の田代教授からは兎の実験モデルを用いた背景と、nicorandil が脊髄保護効果の他に治療効果があるか否かについての質問があり、主査の安田教授から、大動脈外科における脊髄保護に関する研究と本研究の意義、今後の研究の展開についての質問がなされた。これらの質問に対し、申請者は自らの実験結果、臨床体験、この分野に関する文献などをもとに、誠実に、かつおおむね妥当な回答をなした。

本研究は、大動脈手術に伴う虚血性脊髄障害に対する nicorandil の脊髄保護効果を明らかにした最初の研究であり、この薬剤の臨床応用の可能性を強く示唆したものであり、胸腹部大動脈瘤治療の今後の展開に重要な寄与をしようものと評価される。

審査員一同は、申請者の学識にあわせて、この研究が関連領域研究と臨床成績の進展に成果を評価し、大学院課程における研鑽や単位取得なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。