

論文の内容の要旨

1 目的

全脳虚血再灌流では大量の活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) が産生され、大量の ROS が全脳虚血再灌流における高い致死率の一因であることが示唆されている。我々は強力な ROS 除去作用を持つ水素ガスの吸入療法が ROS を軽減することにより全脳虚血再灌流における生存率を改善し得るという仮説を立てた。本研究ではマウス全脳虚血再灌流モデルを用いて水素ガス吸入を行い、その生存率への効果について検討した。さらに各種の生理学的パラメーター、脳血流量 (Cerebral blood flow: CBF)、脳浮腫の程度、病理組織について検討を行った。酸化ストレスマーカーについても検討した。

2 対象並びに方法

雄 C57/BL/6J マウスの 45 分間の一過性両側総頸動脈閉塞 (Transient bilateral common carotid artery occlusion: BCCA0) を行った。160 匹のマウスを、BCCA0 に 1.3 % 水素ガス (水素 1.3 %、酸素 30 %、窒素 68.7 %) を吸入させた群 (BCCA0+H₂ group)、BCCA0 に対照ガス (酸素 30 %、窒素 70 %) を吸入させた群 (BCCA0 group)、偽手術に対照ガスを吸入させた群 (Sham group) の 3 群に分けた。BCCA0+H₂ group では、BCCA0 施行中の 45 分間および BCCA0 解除 180 分後の計 225 分間と術後 1~3 日目まで一日 3 時間の水素ガス吸入を行った。同様の行程を BCCA0 group では対照ガスを用いて行った。Sham group では BCCA0 を施行する以外のすべての行程を BCCA0 group と同様に行った。それぞれの群で、術後 7 日目までマウスの生存の有無を確認した。周術期の平均動脈血圧、心拍数、呼吸数、体温、CBF を記録した。BCCA0 解除 24 時間後の海馬 CA1 領域における神経細胞損傷を Hematoxylin-eosin 染色および Nissl 染色を用いて評価した。同部位の神経細胞損傷におけるオートファジーの影響について microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) 免疫染色を用いて検討した。BCCA0 解除 24 時間後の脳浮腫の程度は脳水分含量を wet/dry 法を用いて測定した。さらに BCCA0 解除 24 時間後の血液脳関門の破綻による血清アルブミンの血管外漏出についてアルブミン染色を用いて評価した。BCCA0 解除 24 時間後の核酸および脂質への酸化ストレスの影響を調べるためにそれぞれ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) 染色と脳内 malondialdehyde (MDA) 値の測定を行った。

3 成績

術後 7 日目の生存率は BCCA0 group では 8.3 % (1/12) に対し、BCCA0+H₂ group では 50 % (5/10) と、有意に改善した ($P = 0.0232$)。BCCA0 解除 24 時間後の海馬 CA1 領域の神経細胞損傷と LC3 染色 (オートファジー) の結果に

について BCCA0+H2 group で有意な軽減が認められた。BCCA0 解除 24 時間後の脳浮腫と血清アルブミンの血管外漏出程度についても BCCA0+H2 group で有意な軽減が認められた。BCCA0 解除 24 時間後の過酸化脂質の MDA 量と酸化的 DNA 損傷による 8-OHdG 陽性細胞数について BCCA0+H2 group で有意に減少した。周術期の各種生理学的パラメーターと CBF への水素ガス治療による影響は認められなかった。

4 考 察

1.3 %水素ガス治療は有意に酸化ストレスを低減し、海馬 CA1 領域の神経細胞損傷とオートファジー、そして脳浮腫を抑制した。水素ガスが強力な ROS の低減を介して神経細胞死を抑制し、脳浮腫を抑制したことが今回の 45 分間 BCCA0 マウスモデルの生存率を改善する一助となった可能性がある。しかしながら水素治療が BCCA0 マウスの生存率を改善するメカニズムについて今後の更なる研究が必要であると思われる。1.3 %水素を含む混合ガスは爆発の危険性を伴わず安全であり、救急隊員等によって迅速にマスク投与できる。心肺蘇生後の全脳虚血再灌流に対して救急医療現場での使用に適している可能性があり、本研究が今後の虚血性脳病変に対する水素治療の可能性に関して研究の礎になると思われる。

5 結 論

全脳虚血再灌流に対する水素ガスによる治療は、術後 7 日目の生存率を改善させた。

海馬 CA1 領域の神経細胞損傷とオートファジー、脳浮腫の軽減が認められ、過酸化脂質の MDA 量と酸化的 DNA 損傷による 8-OHdG 陽性細胞数は減少したことは、水素ガスの ROS に対する低減作用による効果と考えられた。各種生理学的パラメーターと CBF への影響は認められなかった。