

氏 名（本籍） 川 村 伸 悟

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 3 1 6 1 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 11 年 3 月 3 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 56 年 3 月 25 日
北海道大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 ラット局所脳虚血に対するカルシウム拮抗剤
nilvadipine の治療効果

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 吉 本 高 志 教 授 糸 山 泰 人

教 授 柳 澤 輝 行

論文内容要旨

【研究背景および研究目的】

脳虚血は神経細胞内へのカルシウムイオン (Ca^{2+}) の急激な流入を招来し、最終的に神経細胞は死滅する。従って、 Ca^{2+} の細胞内流入を抑制することにより、脳虚血に対する治療効果が期待される。本研究の目的は、 Ca^{2+} 拮抗剤 nilvadipine (以下、Nil) の局所脳虚血に対する脳保護効果を実験動物 (ラット) を用いて検討することである。検討項目は、(1)正常血圧ラットにおける脳保護効果、(2)高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rat, SHR) における高血圧治療後の脳保護効果、(3)脳保護効果が認められる虚血発生から薬剤投与までの許容時間 (いわゆる therapeutic window)、以上の3項目である。

【方 法】

体重 230-340g の雄 Sprague-Dawley rat (SDR) または雄 SHR を用いた。脳虚血モデルは、血管内塞栓系法による一側中大脳動脈 (middle cerebral artery : 以下、MCA) の閉塞モデルを用いた。halothane 麻酔下で、頸部において 3-0 ナイロン糸を外頸動脈から挿入して MCA 起始部を閉塞した。MCA 閉塞 24 時間後、脳還流固定を行い、冠状断切片を作製、Hematoxylin-eosin 染色を行って梗塞巣体積を組織学的に定量評価した。一部の実験では、患側半球体積から健側半球体積を差し引いた値 (脳浮腫体積) を求め、脳浮腫による脳腫脹の指標とした。

【結果および考察】

(1)SDR における脳保護効果：MCA 閉塞直後に溶剤または Nil を 1 回皮下投与した。平均体血圧 (MABP) は、溶剤投与群 (コントロール) および Nil 1.0mg/kg 投与群で有意の変化を示さなかったが、Nil 3.2mg/kg 投与 15 分後、有意に下降した。梗塞巣は、前頭頭頂部皮質の背外側、caudoputamen、淡蒼球、内包に認められた。梗塞巣体積は、Nil 1.0mg/kg 投与群 ($25.5 \pm 11.6\%$, $n=10$) で減少したが、コントロール群 ($28.2 \pm 11.4\%$, $n=10$) と有意差はなかった。Nil 3.2mg/kg 投与群における梗塞巣体積 ($13.9 \pm 9.2\%$, $n=10$) は、コントロール群と比べ有意に減少した ($p < 0.05$)。すなわち、梗塞巣は用量依存性に縮小した。梗塞巣縮小は、梗塞巣辺縁の pallium において認められた。

(2)SHR における高血圧治療後の脳保護効果：溶剤、Nil 約 1 または 3mg/kg/日を 7 日間持続的に皮下投与し、投与 6 日目に MCA を閉塞した。動脈血圧は、コントロール群では不変で、Nil 投与群では有意に下降した。梗塞巣体積は用量依存性に減少し、pallium 辺縁部において梗塞巣

は縮小していた。コントロール群の梗塞巣総体積 ($39 \pm 3\%$, $n=10$) は、Nil $1\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ 投与群 ($37 \pm 2\%$, $n=10$) と比べ有意差はなかったが、Nil $3\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ 投与群 ($34 \pm 3\%$, $n=10$) と比べ有意差を認めた ($p < 0.05$)。

(3) Therapeutic Window の検討：MCA 閉塞後 1-6 時間目に溶剤または Nil $3.2\text{mg}/\text{kg}$ を 1 回皮下投与した。MCA 閉塞中の MABP は $83 \pm 8\text{mmHg}$ で、全ての群で有意差はなかった ($n=105$)。死亡したラットは研究から除外した ($n=5$)。24 時間後、コントロール群と Nil 投与群の MABP は、それぞれ $79 \pm 14\text{mmHg}$ ($n=35$) と $67 \pm 15\text{mmHg}$ ($n=65$) で、後者が有意に低かった ($p < 0.01$)。梗塞巣体積は、コントロール群と比べ 1-3 時間後 Nil 投与群で有意に減少した。梗塞巣の縮小は前頭頭頂部の pallium において認められ、梗塞巣辺縁で縮小していた。脳浮腫体積は、1 時間後 Nil 投与群で有意に減少した。

Nil は、血液脳関門 (blood-brain barrier, BBB) 透過性が高く、脳内への移行も良好である。BBB 透過性の高いことが、Nil の虚血脳に対する効果の背景にあると考えられる。今回の研究結果およびこれまでに報告された結果を総合すると、Nil は、梗塞巣辺縁部の penumbra において、脳血流増加作用または直接的な神経細胞保護作用により脳保護効果をもたらしたと推察された。

【結 論】

Nil は、正常血圧ラットと高血圧治療後の高血圧ラットで、MCA 閉塞後の梗塞巣を用量依存性に縮小した。脳保護効果が認められる therapeutic window は 3 時間であった。以上より、Nil は局所脳虚血急性期治療薬としての臨床応用が期待されると考えられた。また、高血圧長期治療患者では、将来発症しうる脳卒中に伴う脳損傷を軽減する可能性が示唆された。

審査結果の要旨

当論文は、局所脳虚血に対する dihydropyridine 系カルシウム拮抗剤ニルバジピン (nilvadipine : 以下, Nil) の治療効果をラットを用いて検討したものである。脳虚血が生じると、神経細胞内へカルシウムイオン (Ca^{2+}) が急激に流入して、神経細胞は死滅する。そこで、 Ca^{2+} の細胞内流入を抑制すれば、虚血脳保護効果が期待される。 Ca^{2+} 細胞内流入阻害剤 (または Ca^{2+} 拮抗剤) は、脳血管拡張、脳血流増加、細胞質やミトコンドリアへの過度の Ca^{2+} 流入防止などの作用により、虚血性神経損傷を軽減すると言われている。Nil は、イヌの慢性冠動脈閉塞モデルにおいて心筋虚血に対する有効性が指摘されており、脳虚血に対する有効性も示唆されている薬剤である。一方では、dihydropyridine 系 Ca^{2+} 拮抗剤が脳虚血に無効とする報告もあり、本剤の虚血脳保護効果に関する見解は必ずしも一致していない。以上の背景を基に、著者は、Nil の局所脳虚血に対する脳保護効果を実験動物 (ラット) を用いて明らかとするために、正常血圧ラット (SD) における脳保護効果、高血圧治療後の高血圧自然発症ラット (SHR) における脳保護効果、および脳保護効果が認められる虚血発生から薬剤投与までの許容時間、いわゆる therapeutic window などについて検討を行った。

実験結果は、Nil は、正常血圧ラットと高血圧治療後の高血圧ラットにおいて、MCA 閉塞後の梗塞巣を用量依存性に縮小し、脳保護効果が認められる therapeutic window は3時間であった。いずれの実験でも共通した組織学的所見は、梗塞巣の縮小が梗塞巣辺縁の前頭頭頂部 pallium において認められ、虚血中心部の striatum においては有意な梗塞巣縮小を認めなかったことである。このことから、本薬剤は、梗塞巣辺縁の ischemic penumbra において、虚血脳保護効果を示したことが推察された。

本研究の結果から、Nil は局所脳虚血急性期治療薬として有効性が期待されたとともに、臨床応用を示唆したことの意義は大きい。また、 Ca^{2+} 拮抗剤は高血圧症患者に降圧剤として投与されることが多く、高血圧が脳卒中の危険因子であることも考え合わせると、既に Ca^{2+} 拮抗剤を服用していた患者が脳梗塞を発症することは想定される事態である。従って、高血圧長期治療患者において将来発症しうる脳卒中に伴う脳損傷を軽減する可能性を示唆した研究としても意義が深い。本研究は、局所脳虚血モデルの開発から始め、臨床に則したプロトコールで行なわれている。また、参考論文ではラット脳表微小循環観察システムも著者が開発し、Nil の脳表微小血管に対する in-vivo 効果も検討して本剤の作用機序に迫るなど、随所に研究の独創性が見える。よって、本研究は博士論文に値する。