

博士(医学) 今村博幸

学位論文題名

ラット脊髄損傷モデルにおける急性期メチルプレドニゾロン  
大量療法の効果に関する実験的検討

学位論文内容の要旨

I 研究目的

脊髄損傷の病態は鈍力による脊髄組織の直接的な挫傷と、その後に起つて来る浮腫や出血性壞死などの二次的な脊髄の組織変化として考えられている。最近臨床的にメチルプレドニゾロン(MP)の大量投与が神経機能の回復に効果があるという報告なされており、機序としては損傷部を中心として発現する脂質過酸化を抑制し、脂質過酸化由来のフリーラジカルによる隋内血流の循環障害を抑制し、脊髄血流を回復させるためといわれている。しかしこれらの報告は損傷部の効果のみを検討したものであり、損傷部周辺の変化についての報告はない。本研究は、脊髄損傷急性期での損傷部周辺の血流変化、ならびにMP大量投与が損傷部周辺にどの様な影響を及ぼすかを、血流及び病理組織学的変化の面から検討することを目的として行われた。

II 方 法

体重215-350gのWistar-Kingラットを用い、ハロセン吸入麻酔下でTh7, 8の椎弓切除を施行後、硬膜外からTh7/8レベルに閉鎖圧140gのクリップを3秒間かけ、脊髄損傷を作製し。損傷作製30分後に生食もしくはMPを投与し、損傷2時間後に脊髄血流を測定した。実験モデルは以下の4群に分類した。A群：椎弓切除のみ(n=5), B群：生食1cc投与(n=4), C群：MP30mg/kg, 総量1cc投与(n=4), D群：MP60mg/kg, 総量1cc投与(n=4)

1. 脊髄血流測定

血流測定は<sup>14</sup>C-iodoantipyrine(IAP)を用いたオートラジオグラフィーによって行なった。血流測定時に75μCi/kgの<sup>14</sup>C-IAPを生食で総量1ccにし、1cc/分の速度で注入し、注入後は即座に断頭し損傷部を含めて約1.5cmの長さで脊髄を摘出した。摘出した脊髄は-80°Cで凍結固定後-20°C下で20μmの厚さの切片を作製し60°Cで乾燥固定後フィルムに1週間密着露光さ

せ、その後現像した。血流は定量的オートラジオグラフィーシステム MCID 型を用いて算出した。測定部位は損傷部及び損傷部から頭側、尾側方向へ 1 mm 毎に 5 mm の部位まであわせて 11箇所で行なった。

## 2. 病理組織学的検討

血流測定部と同レベルの切片を作製し、HE 染色を行なった。

## III 結 果

運動機能の評価として、損傷前後でどの程度の角度の斜面に水平位を保っていられるかを 1 週間毎に 6 週間まで観察したところ ( $n = 4$ )、損傷前は  $73.8 \pm 1.1$  (mean  $\pm$  SE)° であったが損傷 1 週間後では  $36.2 \pm 4.8$ ° に悪化した。その後徐々に回復し、損傷 3 週間後には  $55.0 \pm 5.2$ ° にまで回復し、以後はほぼ同値で推移していた。

## 2. 血流測定前の生理的測定値

平均血圧  $101.6 \pm 9.7$  mmHg、体温  $36.8 \pm 0.5$  °C、ヘマトクリット  $42.7 \pm 4.5$  %、 $\text{Pao}_2 136.6 \pm 59.1$  mmHg、 $\text{Pao}_2 37.6 \pm 4.2$  mmHg、 $\text{pH} 7.386 \pm 0.045$  であった。

## 3. 正常脊髄血流

A群ラットを用い、Th 7 / 8 レベル及び頭側並びに尾側方向へ 1 mm ずつ 5 mm の部位まで計 11 レベルの平均値をとった。その結果、灰白質は  $96.0 \pm 1.5$  ml / 100 g / min、白質は  $22.9 \pm 1.8$  ml / 100 g / min であった。

## 4. 損傷脊髄血流

a) 灰白質：損傷部においては B 群、C 群、D 群でそれぞれ  $15.3 \pm 4.1$ 、 $18.8 \pm 4.7$ 、 $15.0 \pm 5.0$  ml / 100 g / min と著明に低下していた。損傷部から離れるに従って血流低下は軽度となり、5 mm 頭側の部位でそれぞれ  $60.0 \pm 6.9$ 、 $64.4 \pm 9.5$ 、 $70.5 \pm 3.0$  ml / 100 g / min、5 mm 尾側の部位でそれぞれ  $76.3 \pm 3.5$ 、 $60.1 \pm 15.3$ 、 $77.9 \pm 7.7$  ml / 100 g / min であった。これら 3 群間に有意差は認められなかった。b) 白質：損傷部において B 群、C 群、D 群でそれぞれ  $11.9 \pm 1.7$ 、 $11.8 \pm 2.7$ 、 $6.7 \pm 2.1$  ml / 100 g / min と血流の低下を認めたが各群間に有意の差は認められなかった。損傷部周辺について B 群では頭側 4 mm の部位で正常値より低下していたが、他の部位では明らかな差は認められず、尾側 4 mm、5 mm の部位ではむしろ血流が増加している傾向が認められた。C 群、D 群では頭側、尾側でも B 群と比較して有意に血流が低下していた ( $p < 0.05$ )。C 群と D 群の間には明かな差はなかった。

## 5. 病理組織学的所見

損傷部においては B 群、C 群、D 群とも灰白質を中心とした広範な脊髄実質の挫滅、出血性壞

死を認めた。損傷部から離れるに従って、これらの所見は軽度となり、頭側5mm、尾側5mmの部位においては後索及びその周辺の灰白質の出血性壊死を認めるのみであった。B群、C群、D群ともに同様の所見であり、明かな違いは認められなかった。

#### IV 考 案

本実験は不完全損傷のモデルであるが、この結果から損傷後2時間目の灰白質の血流は損傷部を中心として著明な低下を来し、損傷部から離れるに従って低下の程度は軽度であり、これらはMPを投与しても明らかな変化は認められないこと。白質の血流は損傷部では著明な低下を示すが損傷部周辺では血流は保たれ、むしろ増加傾向を示した部位も認められたこと。MPを投与することによって損傷部周辺の白質の血流はむしろ低下していること。病理組織学的にはMP投与によって、損傷部及びその周辺部とも明かな違いは認められないこと等がわかった。以上のことから脊髄損傷急性期の血流は灰白質においては損傷部を中心としてその周辺も虚血状態にあるが、白質においては損傷部以外は血流は保たれており、むしろ部分的にはhyperemiaの傾向にあるとも考えられた。従ってこのhyperemiaが、損傷後二次的に波及して行く浮腫や出血性壊死の原因となっていると考えられた。MPには損傷部における灰白質及び白質の血流低下を抑制する効果は認められなかった。しかし臨床的に報告されているようにMPが有効であるとすれば、大量投与することによって急性期の時点ではむしろ損傷部周辺の血流を低下させ、hyperemiaによる浮腫や出血性壊死といった二次損傷への進展を防いでいるのではないかと考えられた。

#### V 結 論

ラットに硬膜外クリップ法による脊髄損傷を作製し、損傷部及びその周辺の血流測定を<sup>14</sup>C-IAPを用いたオートラジオグラフィーによって行なった。さらにMPの大量投与を行い損傷2時間目の脊髄血流に与える影響について以下の結論を得た。1) 灰白質は損傷部を中心として血流は低下しており、MP投与による明かな影響は認められなかった。2) 白質の血流は損傷部以外は保たれており、むしろ血流増加を示す部位も認められた。しかしMP投与により損傷部周辺の血流は低下した。3) MPが臨床的に有効であるすれば、急性期に損傷部周辺の白質の血流を低下させ、二次損傷への進展を防いでいるのではないかと考えられた。

## 学位論文審査の要旨

主査 教授 阿部 弘

副査 教授 金田 清志

副査 教授 加藤 正道

脊髄損傷の病態は鈍力による脊髄組織の直接的な挫傷と、その後に起こって来る浮腫や出血性壞死などの二次的な脊髄の組織変化として考えられている。最近臨床的にメチルプレドニゾロンの大量投与が神経機能の回復に効果があるという報告がなされているが、これらの報告は損傷部の効果のみを検討したものであり、損傷部周辺の変化についての報告はない。本研究では、脊髄損傷急性期での損傷部のみならず、その周辺の血流動態の把握、ならびにメチルプレドニゾロン大量投与が損傷部及びその周辺に及ぼす影響を、オートラジオグラフィーを用いた血流変化及び病理組織学的変化の面から検討した。

正常脊髄の血流は灰白質で $96.0 \pm 1.5 \text{ ml}/100 \text{ g}/\text{min}$ 、白質では $22.9 \pm 1.8 \text{ ml}/100 \text{ g}/\text{min}$ であった。 $140 \text{ g}$ 、3秒間の硬膜外クリップ法による損傷モデルにおいて、損傷後2時間の灰白質の脊髄血流はコントロール群（生食投与群）、メチルプレドニゾロン投与群とともに損傷部では著明な血流の低下を認め、損傷部から頭尾側に離れるに従って血流低下は軽度となった。この結果はコントロール群、メチルプレドニゾロン $30 \text{ mg}/\text{kg}$ 群、 $60 \text{ mg}/\text{kg}$ 群とともに同様で3群間に有意の差を認めなかった。白質の脊髄血流は損傷部ではコントロール群、メチルプレドニゾロン群とともに血流の低下を認めた。損傷部から離れた部位についてはコントロール群では正常群と比較して有意の血流変化を認めなかつたが、メチルプレドニゾロン群では $30 \text{ mg}/\text{kg}$ 投与群、 $60 \text{ mg}/\text{kg}$ 投与群とともに損傷部周辺の血流低下を認め、コントロール群に比べ有意の血流低下傾向を示し。

病理組織学的には損傷部では灰白質を中心として著明な出血性壞死像を認めたが、損傷部から離れるに従ってこの所見は軽度なり、損傷部から $5 \text{ mm}$ の部位では後索を中心とした軽度の出血性壞死と、浮腫を認めるのみであった。これらの所見はコントロール群、メチルプレドニゾロン群とともに認められ、明かな違いはなかった。

メチルプレドニゾロンの大量療法は、損傷部を中心として発現する脂質過酸化を抑制し、脂質過酸化由来のフリーラジカルによる髄内血流の循環障害を抑制し、脊髄血流を回復させるとされている。しかしながら本研究では損傷部の血流は灰白質、白質ともに著明な低下を示し、コントロール群との比較、メチルプレドニゾロンの投与量の比較においても有意差を認めなかつた。また、脊髄損傷の症状の進行には損傷部周辺の血流、組織変化が関与していると考えられるが、組

織学的にはコントロール群とメチルプレドニゾロン群間に明かな差を認めなかった。一方損傷部周辺の血流に関しては灰白質では両群間に有意差を認めなかった。白質においては損傷後2時間の時点でコントロール群で未だ明かな血流変化傾向を認めなかったのに対して、メチルプレドニゾロン群ではすでに有意な血流の低下傾向を認めた。

二次損傷の脊髄血流、組織所見は時間経過とともに変化して行き、今回得られた損傷後2時間の損傷部周辺の脊髄血流、組織所見の意味するところは未だ明かでない。しかしながらメチルプレドニゾロンが臨床的に有効であるとすれば、本研究の結果から急性期に損傷部周辺白質の血流を低下させ、今後進行して行くであろうと考えられる浮腫や出血性壞死を抑制しているのではないかと考えられた。

口頭発表の審査会において、金田清志教授よりメチルプレドニゾロンによる急性期脊髄損傷部周囲の白質の血流低下と脊髄機能の保護との関係についての質問がなされた。また加藤正道教授より、脊髄損傷部作製時クリップ挿入の方法、血腫の有無、血腫による脊髄圧迫の有無、脊髄血管支配に個体差が大きいのに対して一定の損傷モデルができる機序についての質問がなされた。さらに小池隆夫教授よりメチルプレドニゾロンのラットと人間との作用力価の違いについて質問がなされた。最後に小山富康教授よりメチルプレドニゾロンによる血流低下の機序について質問がなされた。これらについて、申請者は概ね適切な回答を行った。

本研究はラット脊髄損傷モデルにおいて急性期メチルプレドニゾロン大量療法による損傷部及びその周辺部の脊髄血流の変化をオートラジオグラフィーによって明らかにしたものであり、有意義な研究と考えられ、学位授与に値する。