
人工脳脊髄液灌流による急性期 脊髄損傷治療の基礎的研究

(研究課題番号：09671463)

平成9-10 年度科学研究費補助金
(基盤研究C) 研究成果報告書

平成11年 3 月

研究代表者 佐藤雅規
(旭川医科大学医学部)

はしがき

平成9年度から、文部省科学研究費補助金（基盤研究C）の助成のもとに行われた「人工脳脊髄液灌流による急性期脊髄損傷治療の基礎的研究」は2年間の研究期間を終了し、ここに研究成果をまとめることになった。研究計画のすべてが達成されたわけではないが、いくつかの新しい有用な知見が得られたと考えられる。報告書の作成にあたり、各分野の専門家の方々からの率直な御批判を願うものである。

研究組織

・平成9年度

研究代表者： 岩原敏人（旭川医科大学医学部・講師）
研究分担者： 熱田裕司（旭川医科大学医学部・講師）
佐藤雅規（旭川医科大学医学部・助手）
研究協力者： 小林徹也（旭川医科大学医学部・研究生）

・平成10年度

研究代表者： 佐藤雅規（旭川医科大学医学部・助手）
研究分担者： 熱田裕司（旭川医科大学医学部・講師）
研究協力者： 小林徹也（旭川医科大学医学部・研究生）

研究経費

平成9年度	3,000 千円
平成10年度	700 千円
計	3,700 千円

研究発表

1、学会誌等

- 1) 猪川輪哉、岩原敏人、熱田裕司、佐藤雅規、小林徹也
棘突起縦割脊柱管拡大術の長期成績
日本脊椎外科学会雑誌 8(1) : p.9 ,1997
- 2) 岩原敏人、小林徹也、佐藤雅規、猪川輪哉、熱田裕司
前屈位姿勢による腰部伸筋の筋内圧およびヘモグロビン量の影響
日本脊椎外科学会雑誌 8(1) : p.174 ,1997
- 3) Matsunaga,M., Uemura,Y., Yonemoto,Y., Kanai,K., Etoh,H., Tanaka,S.,
Atsuta,Y., Nishizawa,Y., Yamanishi,Y.
Long-Lasting Muscle Relaxant Activity of Eperisone Hydrochloride after
Percutaneous Administration in Rats.
Lpn.J.Pharmacol. 73 : 215 - 220, 1997
- 4) 熱田裕司
腰部神経根障害の実験モデル
Clinician 44 (460) : 45-49 , 1997
- 5) 岡本哲軌、熱田裕司、松野丈夫、山下泉
膝関節痛の神経性理学的メカニズム
関節外科 16 (8) : 944-953, 1997.
- 6) 小林徹也、熱田裕司、岩原敏人、佐藤雅規、猪川輪哉
急性脊髄損傷モデルにおける脊髄灌流の効果
日整会誌 71 (8) : s1650 (1997)
- 7) Muramoto,T., Atsuta,Y., Iwahara, T., Sato,M., Takemitsu,Y.
The Action of prostaglandin E2 and triamcinolone acetone on the
firing activity of lumbar nerve roots.
International Orthopaedics (SICOT) 21 : 172-175 (1997)

- 8) 佐藤雅規、熱田裕司、岩原敏人
ラット急性脊髄損傷モデルの運動誘発電位に対するPGE1- α CD の効果
日本パラプレジア医学会雑誌 10(1): 60-61 (1997)
- 9) Katsuki,M., Atsuta,Y., Hirayama,T.
Reinnervation of denervated muscle by transplantation of fetal spinal
cord to transected sciatic nerve in the rat.
Brain Research 771 : 31-36 (1997)
- 10) 小林徹也、熱田裕司、岩原敏人、佐藤雅規、猪川輪哉
急性脊髄損傷モデルにおける脊髄灌流療法の有効性についての機能的
評価
脊髄電気診断学 19 (1) : 1-4 (1997)
- 11) 猪川輪哉、熱田裕司、岩原敏人、佐藤雅規、小林徹也
脊髄損傷後の spinal cross-talk 現象の可能性について
脊髄電気診断学 19 (1) : 5-8 (1997)
- 12) 佐藤雅規、熱田裕司、岩原敏人、猪川輪哉、小林徹也、松野丈夫
頸髄症に対するPGE1 と電気生理学的指標を用いた術後予後予測の試
み
東日本整災会誌 10巻 : 17-21 (1998)
- 13) 小林徹也、熱田裕司、岩原敏人、佐藤雅規
急性脊髄損傷に対するヒアルロン酸を用いた脊髄灌流の効果
日本パラプレジア医学会雑誌 11(1):76-77 (1998)
- 14) 猪川輪哉、岩原敏人、熱田裕司、佐藤雅規、小林徹也、松野丈夫、宮田
昌伸
腰部脊柱管狭窄症の下部尿路機能障害
日本脊椎外科学会雑誌 9 (1): p60 (1998)
- 15) 島崎俊司、熱田裕司、松野丈夫、岡本哲軌、山下泉
ヒアルロン酸ナトリウムが知覚神経週末に及ぼす機能的影響
臨床リウマチ 10 : 91-95 (1998)

- 16) 佐藤雅規、熱田裕司、岩原敏人、松野丈夫
実験的脊髄損傷においてPGE1- α CDが運動誘発電位に及ぼす効果
現代医療 vol.30 増刊 II: 153-158 (1499-1504) 別刷 (1998)

2、口頭発表 (主要学会)

- 1) 佐藤雅規
Rat 急性脊髄損傷モデルの運動電位に対する PGE1 - α CD の効果
第16回 北海道脊椎疾患研究会 1996年11月
- 2) 猪川輪哉、岩原敏人、熱田裕司、佐藤雅規、小林徹也
Spinal cross-talk 現象の実験的検討
第92回 北海道整形災害外科学会 1997年1月
- 3) 猪川輪哉、岩原敏人、熱田裕司、佐藤雅規、小林徹也、竹光義治、原田吉雄
棘突起縦割頸部脊柱管拡大術の8-13年成績
第92回 北海道整形災害外科学会 1997年1月
- 4) 小林徹也、熱田裕司、岩原敏人、佐藤雅規、猪川輪哉
急性脊髄損傷モデルにおける脊髄灌流療法の有用性についての機能的評価
第10回脊髄電気診断研究会 1997年2月
- 5) 猪川輪哉、熱田裕司、岩原敏人、佐藤雅規、小林徹也
Spine Cross Talk 現象の実験的検討
第10回脊髄電気診断研究会 1997年2月
- 6) Sato,M., Atsuta,Y., Iwahara,T., Ikawa,T., Kobayashi,T.
Effect of Prostaglandin E on Motor evoked potentials after acute spinal cord injury in rats.
Spine Across the Sea (North American Spine Society)
March 16-20,1997

- 7) Muramoto ,T., Atsuta,Y., Iwathara,T., Sato,M., Takemitsu,Y.
The Action of Prostaglandin E2 and Triamcinolone acetonide on the firing activity of lumber nerve root - An experimental study using an in vitro model -
Spine Across the Sea (North American Spine Society)
March 16-20,1997
- 8) Iwahara,T., Kobayashi,T., Atsuta,Y., Sato,M., Ikawa,T.
The Dynamics of Intramuscular pressure and oxygenation of lumber extensor muscles at the forward bending .
Spine Across the Sea (North American Spine Society)
March 16-20,1997
- 9) 猪川輪哉、岩原敏人、熱田裕司、佐藤雅規、小林徹也
棘突起縦割脊柱管拡大術の長期成績
第26回 日本脊椎外科学会 1997年4月
- 10) 岩原敏人、小林徹也、佐藤雅規、猪川輪哉、熱田裕司
前屈位姿勢による腰部伸筋の筋内圧およびヘモグロビン量の影響
第26回 日本脊椎外科学会 1997年4月
- 11) Sato,M., Atsuta,Y., Iwahara,T., Ikawa,M., Kobayashi,T.
Effects of Prostaglandin E1 on Motor Evoked Potentials after Spinal Cord Injury in Rat.
International Medical Society of Paraplegia 36th Annual Scientific Meeting May 14 - 16, 1997
- 12) 佐藤雅規、熱田裕司、岩原敏人、猪川輪哉、小林徹也、松野丈夫
ラット急性脊髄損傷モデルの運動誘発電位に対するPGE1- α CD の効果
第3回 北海道プロスタグランジン研究会 1997年4月、
- 13) 佐藤雅規、松野丈夫
頸髄症に対するPGE1 と電気生理学的指標を用いた予後予測の試み

第46回 東日本臨床整形外科学会 1997年8月

- 14) 小林徹也、熱田裕司、岩原敏人、佐藤雅規、猪川輪哉、松野丈夫
急性脊髄損傷モデルにおける脊髄灌流の効果
第93回 北海道整形災害外科学会 1997年9月
- 15) 小林徹也、熱田裕司、岩原敏人、佐藤雅規、猪川輪哉
急性脊髄損傷モデルにおける脊髄灌流の効果
第12回日本整形外科学会基礎学術集会 1997年10月
- 16) 小林徹也、熱田裕司、岩原敏人、佐藤雅規
急性骨髄損傷に対するヒアルロン酸ナトリウム (HMT) の効果
第32回 日本パラプレジア医学会 1997年11月
- 17) 熱田裕司
in vitro 神経標本による解析
第10回北海道整形外科基礎研究会 1998年1月1
- 18) 佐藤雅規、熱田裕司、武田直樹、猪川輪哉、小林徹也、小野寺司、阿部
里見、松野丈夫
頸髄症の術後予後予測 - Lipo-PGE1 と電気生理学的指標を用いて
第95回 北海道整形災害外科学会 1998年6月
- 19) Kobayashi T., Atsuta Y., Iwahara T., Matsuno T.
Spinal cord perfusion in rat SCI model.
WPOA 1998 November
- 20) 白 躍宏、竹光正和、熱田裕司、松野丈夫
慢性神経絞扼モデルにおけるtranilastの効果：行動学・電気生理学・組
織病理学的研究
第96回 北海道整形災害外科学会 1999年1月
- 21) 佐藤雅規、熱田裕司、武田直樹、猪川輪哉、小野沢 司、松野丈夫
後根神経節に対するnitric oxideの影響
第96回 北海道整形災害外科学会 1999年1月

研究成果

【はじめに】

脊髄損傷後の2次変性については、1911年Allenの記述以後様々な機序が報告されている。また2次変性を抑制するために、多くの治療法が試みられてきたが、未だ一定の結論に至っていない。今回我々はラット急性脊髄損傷モデルで、脊髄損傷後の2次変性に対する脊髄灌流療法の有効性を、脊髄誘発電位(SCEP)を用いて評価したので報告する。

【方 法】

Wister系成熟雄ラット(体重385-410g)10匹に気管切開を行い、halothane (1-2%) 吸入麻酔後、suxamethonium chrolide (5-8mg/kg、im) にて非動化した。第8-10胸椎を椎弓切除し、その頭尾側棘突起にてstereotaxic frameに固定した。

術野頭尾側に硬膜外カテーテル電極を挿入し下行性脊髄誘発電位を記録した。筋電計はDANTEC社製 Cantataを用い、刺激幅50 μ sec、頻度0.5-1Hz、周波数帯域5-10kHzに設定した。刺激強度は最大上刺激とし、解析はSCEP第1電位の振幅を指標にした。

脊髄損傷モデルは椎弓切除部の胸髄背側正中をmicromanipulatorにより0.01mm/secの低速度で圧迫して作成した。圧迫子は合成樹脂を加工した直径3mm球形状のものを用いた。損傷程度をコントロールするために、圧迫中のSCEPをモニターし、振幅が受傷前の10%以下になった時点で圧迫を中止し、micromanipulatorを除去した。

10匹のラットを2群に分け、5匹を脊髄灌流群(PERFUSION)、残りの5匹を無治療の対照群(CONTROL)とした。脊髄灌流群は圧迫解除直後に損傷部硬膜を切開し、37℃に加温し95%酸素で飽和させた人工脊髄液(aCSF)で損傷部脊髄を4時間灌流した。灌流速度は1ml/min程度とした(Fig.1)。両群とも受傷前より受傷後4時間までSCEPを記録した。

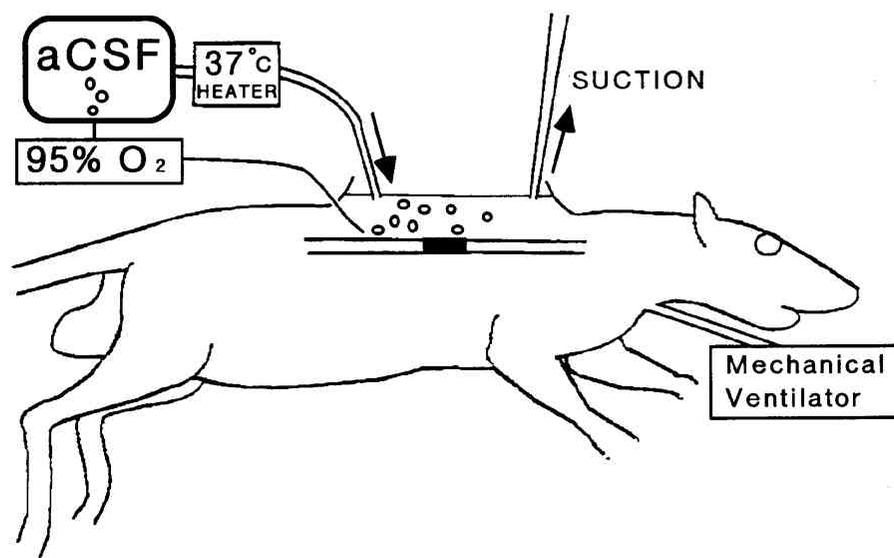


Fig.1 Scheme of spinal cord perfusion method

【結 果】

対照群、脊髄灌流群の代表例SCEP波形をFig.2に、全例のSCEP振幅変化をFig.3示す。対照群では脊髄損傷後やや回復した振幅が漸減し、4時間後にはほぼ消失した。脊髄灌流群では損傷後に回復したSCEP振幅は減少せず4時間後まで漸増傾向がみられた。両群全例の平均SCEP振幅をFig.3に示す。受傷後4時間で、脊髄灌流群はSCEP振幅が平均43.6%に改善したのに対し、対照群では振幅が平均0.2%でほとんど波形を認めず、統計学的有意差を認めた ($p < 0.01$)。

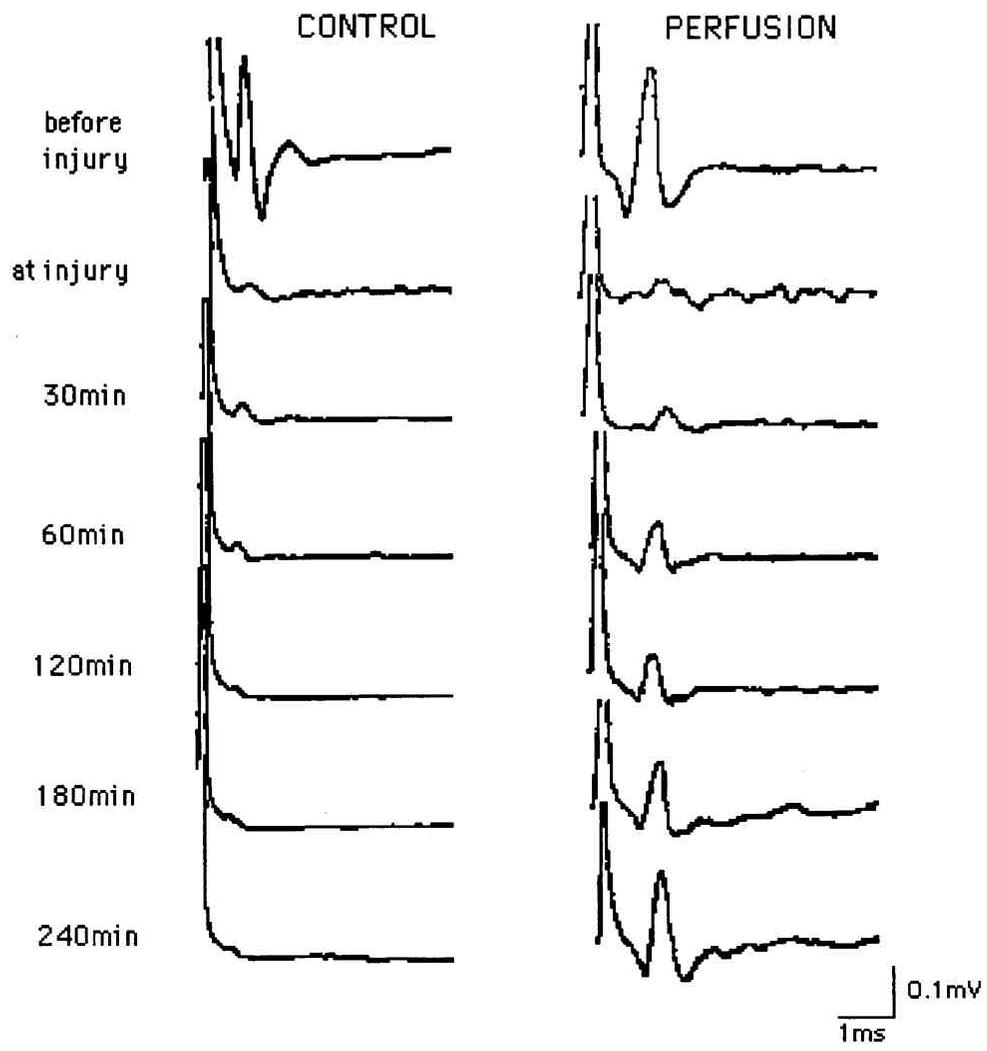


Fig.2 Two examples of recorded SCEP

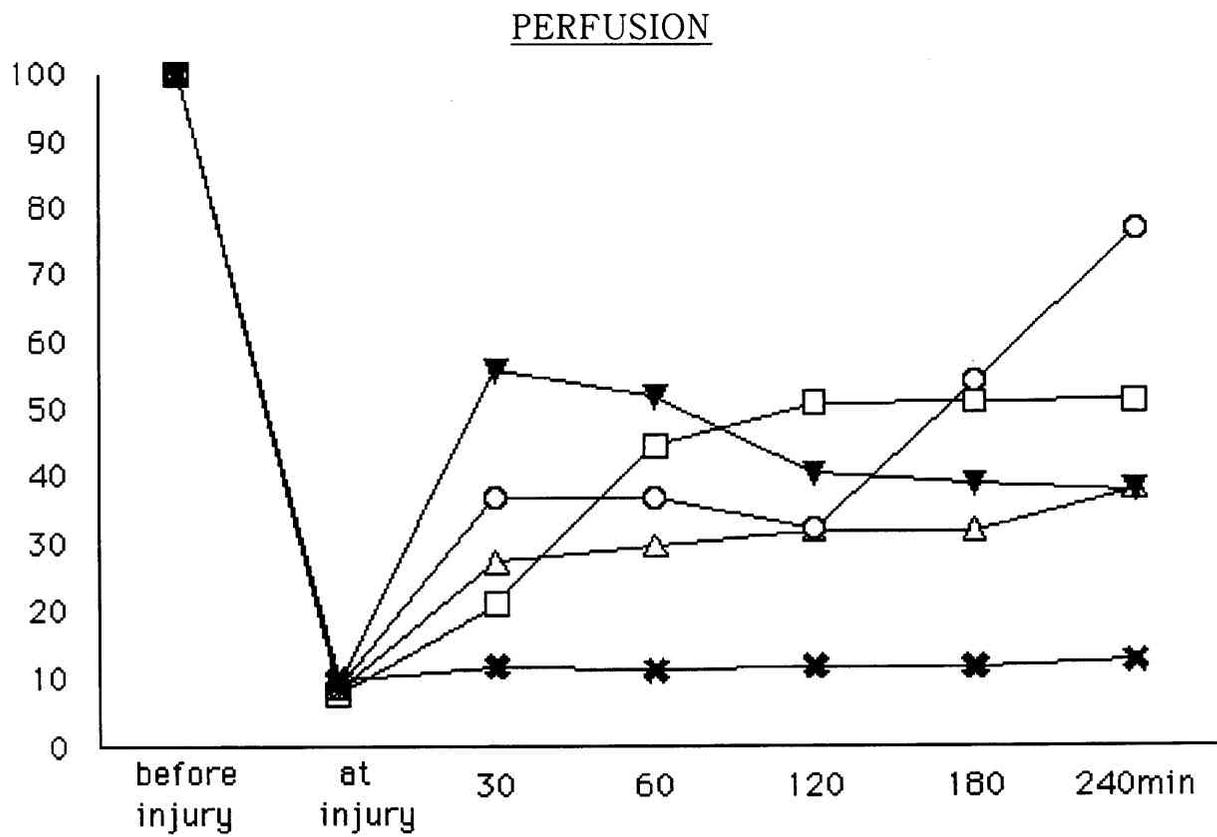
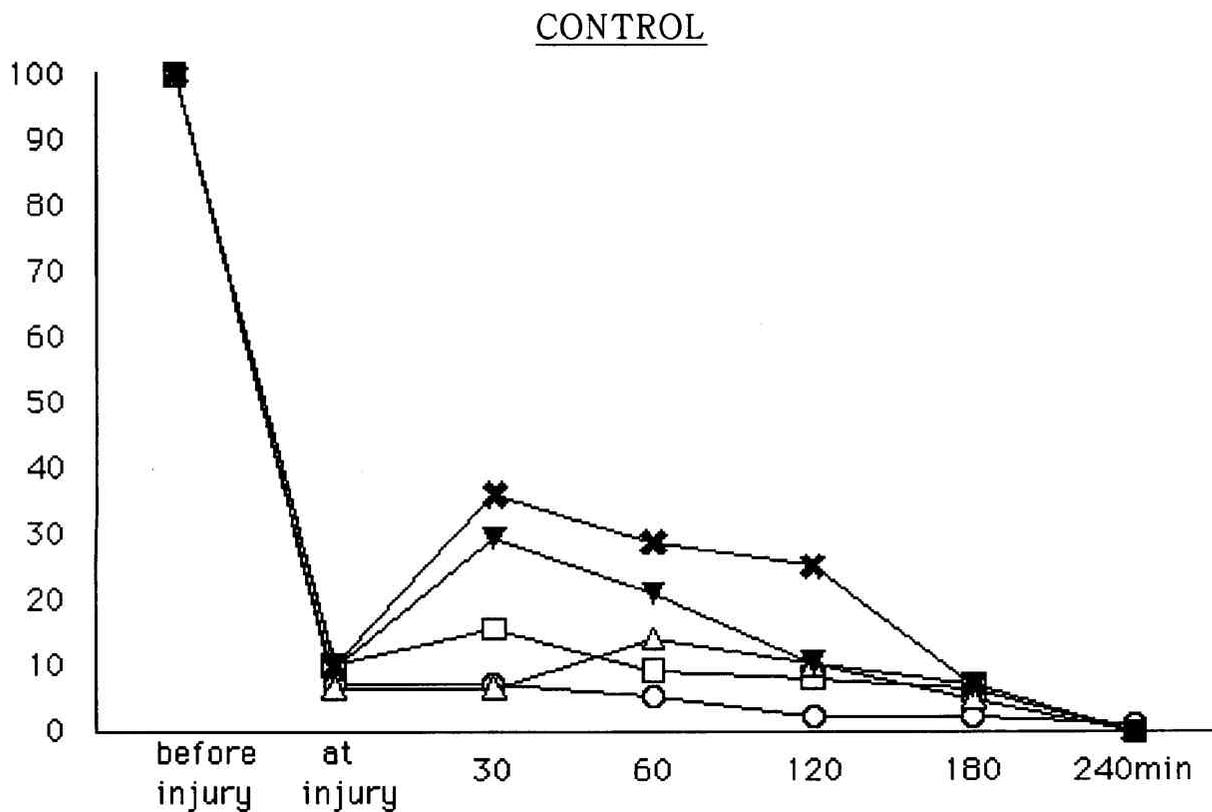


Fig.3 Time related changes of SCEP amplitude

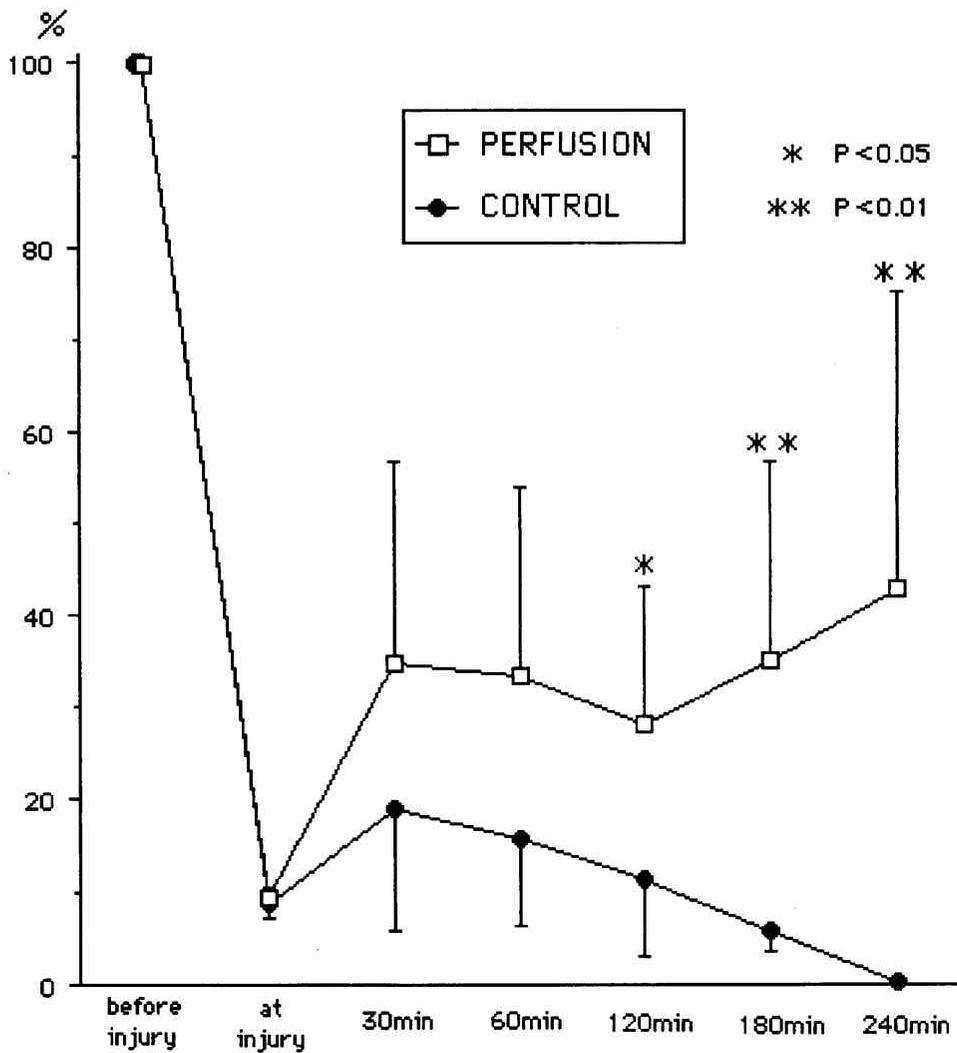


Fig.3 Differences of average SCEP amplitude between the two groups

【考 察】

1970年代より局所脊髄灌流による神経保護作用の報告が散見される2)3)。ただし、多くの報告がbehavior、histologyにより有効性を評価しており、脊髄機能に対する効果を報告したものは少ない。また、損傷程度が一定しないモデルを使用していたため評価が難しかったという指摘もある1)。今回SCEP振幅を指標に作成したモデルは受傷直後は波形の回復を認めるが、その後無治療の場合4時間で波形が消失する再現性を認めた。この変化は脊髄虚血、微

小出血、炎症反応など脊髄の2次変性を表すものと考えられた。今回の結果から局所脊髄灌流は損傷脊髄の機能回復に有効であったが、この効果は脊髄環境の改善とchemical mediatorなどの洗い出しによるものと考えられた。今後、対象や評価方法を工夫し脊髄灌流療法の治療的意義を確立したい。

【結 語】

再現性のある脊髄損傷モデルを用い、脊髄灌流療法の有効性について機能的に評価した。脊髄灌流により損傷脊髄の機能回復を認め、2次変性を抑制していると考えられた。

【文 献】

- 1) Arizala A M, Green B A: Hypothermia in Spinal Cord Injury. J Neurotrauma 9: S497-505, 1992.
- 2) Osterholm J H, Alderman J B, Triolo J T et al : Oxygenated Fluorocarbon Nutrient Solution in the Treatment of Experimental Spinal Cord Injury. Neurosurg 15: 373-380, 1984.
- 3) Tator C H, Deecke L: Value of normothermic perfusion, hypothermic perfusion, and durotomy in the treatment of experimental acute spinal cord trauma. J Neurosurg 39: 52-64, 1973

Abstract 1.

The purpose of this study is to evaluate the spinal cord function using spinal cord evoked potential (SCEP) and to analyze the effect of perfusion with artificial cerebrospinal fluid (aCSF) after the spinal cord injury.

Ten adult Wistar rats were anesthetized and immobilized with halothane and suxamethonium chloride. The animal had a laminectomy at mid thoracic level and was fixed in a stereotaxic frame. Catheter electrodes were inserted through the laminectomy for SCEP recording. Spinal cord was injured by low velocity compression with microactuator until SCEP amplitude became just below 10% of the initial amplitude. In 5 animals, durotomy and spinal cord perfusion with normothermic oxygenated aCSF was performed for 4 hours. The other 5 animals were remained as non-treated controls.

4 hours after the injury, perfused animals showed the recovery of SCEP amplitude to 43.6% in average. In contrast, almost no potential was identified at this time in the control animals. The difference of the two groups was statistically significant, and this suggests that the local perfusion after acute spinal cord injury is a useful treatment for the functional recovery probably due to the suppression of secondary neuronal damage in early stage. Further study with longer observation and larger animals will be required.

Abstract 2.

The purpose of this study is to examine 1) the neuroprotective effect of spinal cord perfusion, and 2) the roll of hyaluronic acid as a radical scavenger, using spinal cord evoked potential (SCEP).

MATERIALS AND METHODS : Thirty Wister rats were used. After laminectomy and durotomy, dorsal spinal cord was compressed for 1 hour under the SCEP monitoring. The extent of injury was determined by the decrease of the SCEP amplitude. Rats were divided into three treatment groups; spinal cord perfusion with artificial CSF (PBS group), spinal cord perfusion with perfusate containing 0.4% hyaluronic acid (HA group), and non-treatment control (control group). The SCEP was recorded for 4 hours after SCI and the spinal cord perfusion was continued during that time.

RESULTS : In all groups, the SCEP amplitude became almost zero after 1 hour of compression. In the control group, the amplitude slightly recovered at 1 hour after decompression, but gradually decreased thereafter. In the PBS and the HA groups, the amplitude that recovered 1 hour after decompression exhibited little decrease. At 4 hours after injury, the recovery of the amplitude in control group, PBS group, and HA group was 8.3%, 35.8%, and 39.8% , respectively. Recovery of the amplitude in the HA group was largest of all ($p < 0.01$).

DISCUSSION and CONCLUSION : Since 1960's, some studies indicated the neuroprotective effect of spinal cord perfusion from behavioral or pathological aspect. Concomitant administration of various drugs during spinal perfusion has also been attempted, but no definite conclusion has been reached. In the present study, we made a new injury model using SCEP as an index, and have reported the efficacy of spinal cord perfusion from the functional aspect of the spinal cord. And better outcome was obtained by addition of HA to the perfusate, indicating a beneficial effect of HA on spinal cord injuries. From these results, possible radical scavenging activity of HA as well as washing out effect of spinal cord perfusion was considered.