

論文の内容の要旨

氏名：古川 雄 都

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：ラット脳挫傷モデルにおける ATP 分解酵素 Apyrase の効果

外傷や虚血などの刺激を受けるとアストロサイトは活性化し、adenosine triphosphate (ATP) を細胞外液

中に放出する。ATP がパラクリンにより隣接するアストロサイト上の P2 受容体に結合すると、そのアストロサイトも活性化される。この連鎖反応はグリオトランスミッションと呼ばれている。ATP のパラクリンはアストロサイトとアストロサイト間だけでなく、アストロサイトからマイクログリアへの連絡にも使われる。頭部外傷や脳梗塞などでマイクログリアも過剰に反応し、結果的に強い炎症反応が起こることになる。この過剰な炎症反応や炎症性サイトカインの放出は脳に悪影響を及ぼし、二次性脳損傷を引き起こす。そこで私はグリオトランスミッターである ATP 自体をアピレースを用いて加水分解することにより、更なる二次性脳損傷の抑制ができないかと考え本研究を行った。またアピレースには ATP 分解作用と共に内皮細胞保護効果があると報告されている。本研究では内皮細胞保護効果、すなわち血液脳関門の評価のためエバンスブルーの漏出実験も併せて行った。外傷モデルはラットの CCI モデルを用い、外傷直後に人工髄液 (aCSF: artificial cerebrospinal fluid) もしくはアピレースを挫傷組織内に投与した。脳挫傷後 1 日目、3 日目、7 日目に脳を摘出しサンプルとした。免疫組織染色、western blotting、polymerase chain reaction を用いて炎症関連因子を解析した。

免疫組織染色では Galectin-3 陽性細胞はアピレース投与群でほとんど認められなかった。活性型マイクログリアを定量するために抗 Galectin-3 抗体を一次抗体とした western blotting を行った。挫傷部近傍大脳皮質、挫傷部位から遠くの大脳皮質内と外傷側海馬の Galectin-3 を定量すると、アピレース投与による有意な Galectin-3 の発現低下が認められた。外傷 3 日後の挫傷周辺大脳皮質組織を用いて、炎症性サイトカインである IL-1 β 、IL-12A、IL-12B、TNF α および、炎症の総合的な指標として NF- κ B の発現を観察した。IL-1 β の発現は外傷によって Naïve 群の発現量の 2 倍近くまで上昇した。しかしアピレースの投与により発現は大きく低下した。IL-12A と IL-12B には外傷による発現量の変化も薬物の効果も認められなかった。TNF α の発現量は CCI により Naïve 群と比較して増加したが有意な差は認めなかった。またアピレースによる効果も認められなかった。NF- κ B の発現量は外傷によって有意な増加は認められなかった。しかしアピレースの投与は大きく発現量を低下させ、Naïve 群 ($p=0.045$) や CCI-aCSF 群 ($p=0.001$) と比較し有意に低いものとなった。外傷 3 日後のラットを用いてエバンスブルーの漏出実験を行った。挫傷部近傍の大脳皮質、挫傷部から遠い大脳皮質、外傷側海馬におけるエバンスブルー濃度はアピレース群の濃度は有意に低下していた。

ラット脳挫傷モデルにおいてグリオトランスミッターである ATP をアピレースを用いて加水分解すると、マイクログリアの活性化が抑制され、抗炎症効果を認めた。またアピレースは外傷後の血液脳関門の血管透過性亢進を抑制すると考えられた。本研究では予後の検討まで行っていないが、今後さらに研究を進めることにより不幸な転帰をたどることが多い重症頭部外傷患者の治療に貢献できる可能性がある。