

論文の内容の要旨

氏名：小林 真人

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選択的 P2X4、P2X7 受容体拮抗薬の効果

外傷性脳損傷では、外傷直後に細胞外液中に大量に放出される ATP がマイクログリア上の P2 受容体に結合すると、マイクログリアの形態は変化して静止型から活性型となる。このマイクログリアの活性化により大量のサイトカインやケモカインが放出され、二次性脳損傷を引き起こす。本研究は、ラット脳挫傷モデルを用いてマイクログリア上の P2 受容体を拮抗することにより炎症反応を抑制して二次性脳損傷を防ぐことを目的とした。

脳挫傷モデルとしてラットの cortical contusion injury (CCI) モデルを用いた。コントロールとして dimethyl sulfoxide (CCI-Control 群) を使用し、選択的 P2X4 受容体拮抗薬である 5-BDBD (CCI-5-BDBD 群)、選択的 P2X7 受容体拮抗薬である AZ11645373 (CCI-AZ11645373 群)、およびその 2 剤 (CCI-5-BDBD+AZ11645373 群) を脳挫傷中心部に局所投与する群を作製した。正常対照群として処置を行っていない Naïve 群と比較した。

抗 Iba-1 抗体によりマイクログリアを免疫染色した結果、CCI-Control 群では Iba-1 陽性細胞が naïve 脳

と比較して著明に増殖しており、その多くは形態学的に活性型マイクログリアであった。次に CCI-5-BDBD 群、CCI-AZ11645373 群および CCI-5-BDBD+AZ11645373 群の脳を抗 Iba-1 抗体で免疫染色すると、外傷側の大脳皮質や海馬では、CCI-Control 群と比べて細胞数も、活性型マイクログリアの割合も明らかに低かった。次に抗 Iba-1 抗体を用いて western blotting を行い、マイクログリアの定量を行った。CCI 後に 5-BDBD、AZ11645373 もしくはその両方を投与すると、Iba-1 の発現は CCI-Control 群と比較して有意に低下した。活性型マイクログリアが放出する炎症性サイトカインの mRNA の発現をみるために PCR を行った。Naïve 群と比べて CCI-Control 群では脳挫傷周囲大脳皮質、脳挫傷から遠い同側の大脳皮質、外傷側海馬において interleukin-1 beta (IL-1 β) の有意な上昇を認めた。すべての部位で IL-1 β の発現は

P2X 受容体の拮抗により低下したが、特に脳挫傷から遠い同側の大脳皮質と海馬ではその低下は有意であった。脳の二次損傷を大きく左右すると報告されている IL-1 β を ELISA 法にて定量した。IL-1 β の発現は CCI により有意に上昇した。CCI-Control 群に比べて 5-BDBD、AZ11645373、およびその両方を投与した群で IL-1 β の発現量が有意に低下した。しかし IL-1 β の発現量に投与薬物の違いによる有意な差は認められなかった。

本研究により外傷後に 5-BDBD および AZ11645373 を用いて P2X4、P2X7 受容体を拮抗すると活性型マイクログリアの発現を抑制し、一部のサイトカインの放出も抑制することが分かった。In vivo モデルを用いて外傷後にグリオトランスミッションを制御することにより、サイトカインの抑制効果が示された研究結果はこれまでに報告されていない。5-BDBD および AZ11645373 は、脳挫傷後の二次性脳損傷の主要因である過剰な炎症反応を抑制し、有効な治療法となりうる可能性が考えられた。