

論文の内容の要旨

氏名：根 岸 弘

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クロドロン酸リポソームの効果

頭部外傷は、一次性脳損傷と、その後に生じる二次性脳損傷があり、これらが総じて脳細胞を障害することが知られている。外傷直後に外傷部位周囲のマクログリアは非活性型から活性型のマクログリアに形態変化する。活性型マクログリアは、外傷などの強度の刺激下では大量のサイトカインを放出し、過剰炎症反応により二次性脳損傷を助長する。外傷後急性期の大量のサイトカインは有害に働くとの報告が多い。クロドロン酸リポソーム (clodronate-encapsulated liposome: CL) は、生体内のマクロファージを一時的に枯渇させ、脳内のマクログリアにも効果があると報告されている。本研究では、ラット脳挫傷モデルを用いて、CL を超急性期に単回投与することによりマクログリアによる炎症反応を抑制し、組織保護効果が得られるかを検討した。

外傷モデルとして、cortical contusion injury (CCI) を用いた。外傷直後に大腿静脈内に CL を投与した群 (CCI-CL 群)、外傷直後に control liposome を投与した群 (CCI-Control 群)、外傷を与えずに CL を投与した Sham-CL 群を作製し、正常対照群である Naïve 群と比較した。CL の効果を評価するためにマクログリアに対する免疫組織染色と、その発現量を定量し、また組織炎症の指標である protein kinase C delta (PKC δ) を Western blotting を用いて定量した。さらに炎症関連サイトカインの messenger ribonucleic acid の発現を観察するために Polymerase chain reaction を行った。最終的に脳組織保護効果の評価のため、組織破壊の指標である matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) の発現を観察し、残存脳体積の測定を行った。

抗 Iba-1 抗体を用いた免疫組織染色では、CCI-CL 群では陽性細胞の密度は Naïve 群と同等で、形態学的にそのほとんどが非活性型の ramified 型であった。Western blotting では、脳挫傷周囲皮質を検体に用い、抗体には全てのマクログリアを標識する抗 CD11b 抗体と、活性型の amoeboid 型のみを標識する抗 Galectin-3 抗体を用いた。外傷 1 日後には、CD11b、Galectin-3 の発現量は、CCI-CL 群では CCI-Control 群と比較し有意に発現の抑制を認めた。PKC δ は、外傷 1 日後には CCI-CL 群では CCI-Control 群と比較して有意に発現の抑制を認めた。脳挫傷周囲皮質における炎症関連サイトカインの発現は、外傷 3 日後には、CCI-CL 群の IL-4、TNF α の発現は CCI-Control 群と比較し有意に抑制された。MMP-9 は、外傷 3 日後には CCI-CL 群では CCI-Control 群と比較し有意に抑制された。また、外傷 28 日後に残存脳体積の比較を行った。CCI-Control 群の脳体積は Naïve 群と比較して有意に減少したが、CCI-CL 群の脳体積は CCI-Control 群と比較して有意に回復した。

本研究により、外傷後にクロドロン酸リポソームの全身投与を行うと、脳内のマクログリアが抑制され、抗炎症作用を発揮することがわかった。クロドロン酸リポソームの投与は脳挫傷後の二次性脳損傷の主体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。