

論文の内容の要旨

氏名：吉 田 礼於那

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：頭部外傷における PKC- δ inhibitor の有効性

脳挫傷は外力による直接的な機械的損傷である一次性脳損傷と二次性脳損傷により構成される。二次性脳損傷にはグルタミン酸の放出や酸化ストレス、アポトーシスが関与していることが知られている。今回、グルタミン酸や酸化ストレスの放出に関与しているとされる protein kinase C-delta (PKC- δ) に注目した。PKC- δ は虚血、再灌流によって活性化され炎症を励起し、結果としてアポトーシスを誘導する。本研究ではラット脳挫傷モデルを用いて PKC- δ 阻害剤である Rottlerin を投与して、脳挫傷後に起こる炎症反応の励起を抑制することによって、二次性脳損傷を軽減できるか検討を行った。

外傷モデルとして、cortical contusion injury (CCI) を用いた。外傷直後に腹腔内に浸透圧ポンプを留置して薬剤の全身投与を行った。外傷直後に Rottlerin を投与した群 (Rottlerin 投与群)、外傷直後に生理食塩水を投与した群 (CCI 群)、正常対照群として処置を行っていない群 (Sham 群) と比較を行った。アポトーシスの程度を可視化するために Tunel 染色を行った。Rottlerin の効果を評価するために、PKC- δ に対する免疫組織染色、その発現量の定量を行い、PKC- δ に次いで過剰な炎症を励起する matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) の発現量を Real time quantitative reverse transcriptional polymerase chain reaction で評価した。脳組織保護効果評価のために残存脳皮質面積を比較検討した。

Tunel 染色では、CCI 群は挫傷直下にアポトーシスを起こしている細胞を多数認め、Rottlerin 投与群では CCI 群と比較すると少なかった。抗 PKC- δ 抗体を用いた免疫組織染色でも同様に、どちらの群でも挫傷直下に PKC- δ 陽性細胞を認めているものの、Rottlerin 投与群は CCI 群と比較すると減少していた。Western blotting でも同様に外傷後 3 日後、7 日後の挫傷側皮質検体では Rottlerin 投与群は CCI 群と比較して PKC- δ が有意に抑制されていた。しかし、MMP-9 については外傷後 3 日後の皮質検体では CCI 群と比較して Rottlerin 投与群では減少傾向はあるものの、有意な差は認められなかった。残存脳皮質面積においても Rottlerin 投与群、CCI 群に有意な差は認められなかった。

本研究により、外傷後に Rottlerin を全身投与することで脳皮質における PKC- δ が抑制されることが分かった。しかし、炎症を励起する MMP-9 の抑制までには至らなかった。これは薬物の投与方法や投与量、投与期間によるものの可能性もあるが、MMP-9 には複数の活性経路があるため抑制に至らなかった可能性も考えられる。そのため、薬剤投与量の十分な比較検討を行う、または炎症を励起するマイクログリアや酸化ストレスなどほかの病態への治療と組み合わせなどによって Rottlerin が二次性脳損傷の治療の 1 つとして効果を示す可能性があると考えられた。