

## 学位論文要旨

氏名 阿部 尚紀

論文名

頭部外傷後の浸潤白血球や活性化マクログリアの作用  
：催眠鎮静薬ブロムワレリル尿素による予後改善効果から

---

### 学位論文要旨

#### 【はじめに】

頭部外傷は最も多い死因の一つであり、多くの頭部外傷患者が長期間続く神経障害に苦しんでいる。そのため数多くの研究が行われており、頭部外傷後の過剰な炎症による脳の2次的損傷がその予後を悪化させる原因として注目されている。その過剰な炎症を引き起こす原因としてマクログリアや骨髄由来のマクロファージ等が挙げられているが、その役割について未だ詳しく解明されていない。我々は、古典的催眠鎮静薬ブロムワレリル尿素(BU)が著明な抗炎症作用を有することを発見し、敗血症モデルやパーキンソン病モデルラットに対する治療効果を報告してきた。本研究ではこのBUを用いて、頭部外傷後の浸潤白血球や活性化マクログリアの作用解明を試みた。

#### 【方法】

7-9週齢のオスWistarラットを用いた。頭頂部頭蓋骨に穴を空け、注射針を刺入する方法で脳傷害を作成した。その1時間後にBUを皮下注射し、その後経口投与に切り替えて1週間BUを投与したBU群と、溶媒のみを皮下注射しその後水のみを飲水させたvehicle群の二群に分け、脳MRIの撮像や、学習行動実験等を行いBUの長期予後への影響を調べた。また、採取した脳組織等を定量的リアルタイムPCRや免疫組織化学染色、ELISA、フローサイトメトリー等の手法を用い、頭部外傷の予後増悪機序を検討した。

#### 【結果】

BUは、頭部外傷15週間後の脳組織喪失容積を縮小させ、学習能力や空間認知機能の低下を抑制していた。

頭部外傷1.5日後の損傷部周辺ではCCL2等のケモカイン、IL-1 $\beta$ やTNF $\alpha$ 、IL-6等の起炎症性サイトカインや、活性酸素合成酵素NADPHオキシダーゼのmRNA発現、活性酸素障害の良い指標であるとされる8OHdG、髄液中IL-6タンパク質がBU群で抑制されていた。頭部外傷1.5日後のフローサイトメトリー解析では、CD45やCD11bcの発現強度が高く、大きさも大きく、顆粒状である活性化マクログリア

氏名 阿部 尚紀

アや、マクロファージ、顆粒球の浸潤が増加しており、その中で活性化マクログリアが最も強く活性酸素種を産生していた。BU はマクロファージの浸潤を抑制し、活性化マクログリアの活性酸素種産生を抑制していた。

頭部外傷 7 日後では、損傷部周辺で BU 群が CCL2 や iNOS の mRNA の発現を抑制する一方で、神経保護因子である IGF-1 やマクロファージマーカーである Iba1 の mRNA の発現が上昇していた。頭部外傷 7 日後のフローサイトメトリー解析では、活性化マクログリアや浸潤マクロファージの数に差は認められなかったが、BU は浸潤マクロファージの CD86 陽性率をやや低下させ、CD206 陽性率をやや増加させた。

#### 【考察】

頭部外傷後の急性期には、末梢白血球が脳へ浸潤し起炎症性メディエーターや活性酸素種を放出することにより脳損傷を悪化させると言われており、特に好中球やマクロファージがその役割を担っているとされてきた。しかし、好中球においてはその浸潤を抑制しても頭部外傷の予後を改善できなかったとの報告があり、本研究においても浸潤してきた好中球に有意差は認められなかった。また、マクロファージにおいては、CCL2-CCR2 相互作用を阻害することで組織障害に繋がるマクロファージの浸潤を抑制し治療効果が認められたとする報告がある一方で、その浸潤を阻害すると組織修復に繋がるマクロファージを阻害してしまい長期予後の悪化をきたすとする報告もある。本研究では、BU はグリア細胞由来の CCL2 を抑制することで頭部外傷 1.5 日後のマクロファージの浸潤を抑制したが、頭部外傷 7 日後ではその差が認められなくなっていた。外傷後 7 日目の免疫組織学的染色で、BU 群は外傷部周辺の Ki67 陽性細胞が多く、細胞分化が亢進しているため 7 日目で差が認められなくなったと考えられる。更に外傷後 7 日目では、マクロファージの約 80 パーセントが CD206 を発現した組織修復を促進する M2 型であり、BU は組織修復マクロファージを抑制しないと考えられた。また、活性化マクログリアも起炎症性伝達物質や活性酸素種を放出することにより脳損傷を悪化させるとされているが、浸潤白血球と比較してどの程度であるかは解明されていなかった。本研究で活性化マクログリアが最も強く活性酸素種を産生しており、BU はその産生を抑制していた。

#### 【結論】

これらのことから、頭部外傷の 2 次損傷を悪化させる主な原因は活性化マクログリアによる活性酸素種放出にあり、これを抑制することが BU の主な治療効果発揮メカニズムであると考えられた。加えて、BU は CCL2 を抑制し組織障害に寄与するマクロファージの浸潤を抑制する一方で、組織修復型マクロファージは抑制しないことでも治療効果を発揮したと考えられる。BU は、ヒトに対して安全性が確立された薬剤で、新たな頭部外傷治療薬となる可能性があると考えられる。

キーワード (3~5)	活性酸素種 CCL2 Flow cytometry BINCs 頭部外傷
-------------	--