

(第7号様式)

学位論文審査結果の要旨

氏名	阿部 尚紀
審査委員	主査 山下 政克 副査 相引 眞幸 副査 江口真理子 副査 羽藤 高明 副査 森野 忠夫

論文名

頭部外傷後の浸潤白血球や活性化マイクログリアの作用：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

審査結果の要旨 (2,000 字以内)

【背景と目的】

頭部外傷は最も多い死因の1つであるだけでなく、患者の多くが長期間続く神経障害に苦しんでいる。頭部外傷の予後を改善するための研究は数多く行われており、頭部外傷後に起こる過剰な炎症反応が脳の2次的損傷を誘発し、予後を悪化させている可能性が示されている。過剰な炎症の原因細胞として、活性化マイクログリアや骨髄由来マクロファージなどが考えられているが、それぞれの細胞の役割は未だ解明されていない。本研究では、抗炎症活性を持つ古典的催眠鎮痛薬ブロムワレリル尿素(BU)を用いて、頭部外傷後の過剰な炎症反応誘導における白血球浸潤(好中球、マクロファージ)や活性化マイクログリアの役割を解明するとともに、BUの頭部外傷治療薬としての可能性について検討した。

【材料と方法】

解析は7-9週齢のウイスターラット(♂)を用いた。脳障害は、頭頂部頭蓋骨に穴をあけ、26ゲージの注射針を刺入することで作製した。BUは、注射針の刺入1時間後に皮下投与し、その後は経口投与に切り替えて1週間投与した。対照群には、溶媒のみを皮下注射した後、水だけを飲ませた。コントロール群とBU投与群について、脳MRIの撮画像、行動学習実験を行った。また、採取した脳組織、脳組織から分離したマイクログリアやマクロファージを用い、

定量的 PCR、免疫組織化学染色、ELISA、フローサイトメトリーや代謝フラックス解析を行った。

【結果】

BU 投与により、頭部外傷 15 週後の脳組織喪失容積が減少し、学習能力や空間認知脳の低下が抑制された。頭部外傷 1.5 日後の損傷部位周辺では、BU 投与群において CCL2 をはじめとした炎症性ケモカインや IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 などの炎症性サイトカイン、活性酸素障害がコントロール群に比べ減少していた。また、BU 投与によりマクロファージの浸潤、活性酸素種の産生が抑制された。頭部外傷後 7 日目において、BU 投与群ではコントロール群に比べ、M1 マクロファージの浸潤が減少し、M2 マクロファージが増加していた。一方、コントロール群と BU 投与群間で、活性化マイクログリアや浸潤マクロファージ数に差は認められなかった。さらに、*in vitro* 代謝フラックス解析の結果から、BU はマイクログリアの酸素消費量を減少させ、細胞内エネルギー代謝に対し抑制的に作用することが分かった。

【結論】

頭部外傷後の 2 次損傷を悪化させる原因は、マクロファージや活性化グリアからの活性酸素放出にあることが分かった。また、BU は CCL2 発現を減弱させることで組織障害型の M1 マクロファージの浸潤を抑制するが組織修復型の M2 マクロファージの動態には影響を与えないことが示された。さらに、BU はマイクログリアやマクロファージの代謝に対して抑制的に作用することが明らかとなった。以上のことから、BU は、新たな頭部外傷治療薬となる可能性が考えられた。

本論文は、頭部外傷後の神経障害の誘発機構の一端を解明するとともに、BU が頭部外傷の新たな治療薬となりうる可能性を初めて明らかにしたものであり、明瞭な結果と十分な考察が提示されている。公開審査会は、平成 30 年 2 月 5 日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表し、1) モデルマウスの作製方法や解析方法の妥当性、2) BU 投与量や投与方法の妥当性、3) ステロイドをはじめとした他の抗炎症薬に対する優位性、4) BU の作用メカニズム、5) M1 マクロファージから M2 マクロファージへのシフトのメカニズム、7) BU の虚血誘発の炎症に対する作用、7) 頭部外傷後における ROS 産生細胞、8) BU の細胞内代謝に対する作用などに関する多くの質問に対し日本語で的確に応答した。

審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。