

氏 名 (本籍)	志 賀 裕 正
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1153 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 5 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 条 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 専 攻	東 北 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科 (博 士 課 程) 内 科 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	脳 虚 血 再 灌 流 障 害 へ の 好 中 球 の 関 与 に つ い て

(主 査)

論 文 審 査 委 員	教 授 吉 本 高 志	教 授 白 土 邦 男
	教 授 岩 崎 祐 三	

論文内容要旨

単球、マクロファージなどの貪食細胞の侵入に先立ち脳虚血巣に侵入する好中球は単に壊死組織の除去と癒痕形成のみに関与するばかりでなく、最近では虚血性脳障害の発生にも関与していると考えられている。

抗ラット好中球モノクロナール抗体 (RP-3) で予め好中球を枯渇させたラットの中大脳動脈を1時間閉塞させ、再灌流24時間後に乾燥重量法による脳含水量、TTC染色による脳梗塞巣の測定を行い脳虚血再灌流障害への好中球の関与について検討した。

好中球の障害部位への侵入は、inter cellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) や endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) などの接着因子の働きで血管内皮と接着し、血小板活性化因子 (PAF) や interleukin-8 (IL-8) によって血管外に誘導されると考えられている。

骨髄抑制作用が少なく、種々の炎症性サイトカインを抑制し、しかも好中球と血管内皮との接着に重要な役割を担っている ICAM-1 をも抑制する免疫抑制剤サイクロスポリン A (CsA) の脳虚血再灌流障害への関与についても同様の方法で検討した。

RP-3 投与群では中大脳動脈灌流域皮質 (MCA)、線条体背外側部 (DCP)、線条体腹内側部 (VCP) の含水量はそれぞれ $79.93 \pm 1.41\%$ 、 $81.00 \pm 1.41\%$ 、 $79.38 \pm 1.10\%$ であった。生理食塩水投与のコントロール群ではそれぞれ $82.64 \pm 1.92\%$ 、 $83.08 \pm 1.54\%$ 、 $80.07 \pm 0.81\%$ で好中球枯渇群で有意に ($P < 0.05$) 含水量が低下していた。RP-3 投与群の梗塞巣はプレグマ前 1 mm、後 1 mm、後 3 mm の冠状断面でそれぞれ $17.48 \pm 5.85\%$ 、 $16.72 \pm 4.47\%$ 、 $9.50 \pm 2.65\%$ であった。一方コントロール群では、それぞれ $35.76 \pm 7.43\%$ 、 $40.29 \pm 10.81\%$ 、 $26.83 \pm 8.54\%$ で、好中球枯渇群では梗塞巣が有意に ($P < 0.01$) 縮小していた。

CsA 投与群では MCA、DCP の含水量はそれぞれ $79.25 \pm 1.41\%$ 、 $80.53 \pm 2.42\%$ であった。オリーブオイル投与のコントロール群ではそれぞれ $82.21 \pm 1.62\%$ 、 $82.93 \pm 1.29\%$ であった。CsA 投与群では MCA で有意に ($P < 0.01$) 含水量が低下していた。CsA 投与群の梗塞巣はプレグマ前 1 mm、後 1 mm、後 3 mm の冠状断面でそれぞれ $16.15 \pm 4.47\%$ 、 $12.20 \pm 6.40\%$ 、 $6.55 \pm 1.68\%$ であった。一方コントロール群では、それぞれ $36.82 \pm 7.15\%$ 、 $40.65 \pm 10.36\%$ 、 $27.17 \pm 8.90\%$ で、CsA 投与群では梗塞巣が有意に ($P < 0.01$) 縮小していた。

好中球が虚血再灌流時の低灌流に関与することが報告されているが、虚血病巣に侵入した活性化された好中球から組織障害性の活性酸素、IL-1、ロイコトリエン B₄、血小板活性化因子なども放出される。これらはさらに接着因子を介して好中球を障害部位に誘導すると思われる。このように好中球は単に虚血再灌流時の低灌流に関与するばかりでなく、活性酸素、炎症性サイトカ

イン、接着因子と複雑に絡みあって虚血再灌流障害に関与するものと思われる。虚血再灌流障害には単球、補体も関与することも報告されている。

さらに今回の実験では免疫抑制剤サイクロスポリン A (CsA) も保護効果が認められた。CsA は IL-2 や γ -インターフェロンなどのサイトカインばかりでなく ICAM-1 の発現も抑制する。抗 ICAM-1 抗体の投与により脊髄の虚血再灌流障害が軽減したとの報告もある。CsA は脳血流や血管透過性には影響しないことが報告されており、今回の実験でみられた脳虚血再灌流障害抑制効果は好中球、炎症性サイトカイン、接着因子を含めた免疫反応を抑制することによると思われる。CsA が皮質でのみ抑制効果が認められたのは、CsA の選択的結合蛋白であるサイクロフィリンの脳内分布が一様ではなく、皮質に多く、線条体には極僅かしか存在しないことが大いに関与していると思われる。われわれのモデルでは皮質に比して線条体で虚血侵襲が強いことも関与すると思われる。

これまで虚血再灌流障害の発生には再灌流時の低灌流ばかりが注目されてきたが、接着因子、炎症性サイトカインによって引き起こされる好中球の虚血巣への侵入に始まる、虚血後におこる免疫反応の関与も重要であると思われる。

好中球は脳虚血再灌流障害発生の重要な因子であることが示唆された。

好中球潤滑、CsA 投与が修復過程にどのような影響を及ぼすかは、今後の課題であると思われる。

審査結果の要旨

虚血性脳障害の病巣の周囲には種々の細胞浸潤が認められるが、これまでは好中球の浸潤は病変完成後の壊死細胞除去、瘢痕形成などに関するものと考えられていた。しかし、脳梗塞急性期の剖検所見や動物実験から、他種の細胞浸潤に先行して好中球が進入し、虚血病巣形成過程においてもなんらかの役割を果たしている可能性が示唆されるが、この問題に焦点を絞った研究は少なかった。

本研究は従来あまり注目されていなかった急性期虚血病巣の成生過程における好中球の関与を実験的に確認し、さらに細胞浸潤を炎症・免疫反応の観点から考察しながら、サイクロスポリンA (CsA) の虚血病巣拡大抑止作用の有無を検討したものである。

内容は、抗ラット好中球抗体 (RP3) で前処置し、好中球を枯渇させたラットを用いて中大脳動脈を1時間閉塞後に再灌流させ、24時間後に脳組織の含水量と虚血病巣の広がりを検討した。その結果、無処置群に比較して、好中球枯渇・ラット群では有意に含水量は少なく、梗塞病巣も小さいことを確認した。同様の報告はこれまで2-3の論文で報告されているが、機序について他の研究者は、活性化されて好中球の凝集、血管内皮細胞との粘着による再開通後の血流停滞など、微小循環の面から考察している。これに加えて、著者は活性化された好中球から組織障害性の活性酸素、ロイコトリエン、IL-1などが放出される結果と推定し、虚血病巣における炎症反応の面を重視した。次いで、ラットの中大脳閉塞モデルを用いて、CsA投与の効果オリーブオイル投与群を対照として検討し、CsA投与群では有意に梗塞巣が小さく、特に皮質枝領域の梗塞抑止が顕著であることを示した。著者は、この機序の詳細は不明であるが、CsAには脳血流の血液脳関門に対する直接の作用は知られていないことから、種々の免疫反応抑制作用に加え、接着因子の発現抑制作用などを介して病巣拡大に対して阻止的に働くものと推定している。

虚血病巣生成過程における好中球の障害性役割とCsAの抑止効果がどのような接点を有するかは今後の問題と思われるが、本研究はCsAが虚血性病巣抑止効果を有することを示した最初のものである点は高く評価されよう。また、これらの結果は、脳虚血の病態を考える上で、炎症・免疫反応の重要性を示唆し、とくに再開通の頻度が高く、予後不良な例の多い脳塞栓症の治療に対して新たな可能性を加えるものとして注目される。

よって、本論文は学位授与に値するものと評価される。