



Title	ラット中大脳動脈閉塞一再開通障害における好中球の役割に関する研究
Author(s)	松尾, 嘉之
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/39446">https://doi.org/10.18910/39446</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	まつ 松 お 尾 よし 嘉 ゆき 之
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 薬 学 )
学 位 記 番 号	第 1 2 1 8 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 1 2 月 6 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	ラット中大脳動脈閉塞－再開通障害における好中球の役割に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 馬 場 明 道 (副査) 教 授 溝 口 正 教 授 田 中 慶 一 教 授 東 純 一

### 論 文 内 容 の 要 旨

虚血性脳血管障害がいわゆる脳卒中の主要な原因の一つであることが様々なトライアルから既に明らかである。最近、脳血管障害発症後数時間という超急性期に血栓を除去して血流再開することによって虚血傷害を軽減しようとする施設が増えている。しかしながら、再灌流によって、むしろ悪化する症例があることも明らかになりつつある。また、一過性脳虚血発作の患者では血栓による虚血再灌流が頻繁に起こっており、再灌流自体が脳血管障害の進展に寄与している可能性も指摘されている。最近、好中球がこの再灌流障害の進展に重要な役割を演じていることが明らかになりつつある。通常好中球は血管壁に接着することなく血管内を流れているが、虚血再灌流を受けると、好中球は内皮上を転がるローリングと呼ばれる動態を取って減速し、接着分子を介して血管内皮に接着した後、組織内へ浸潤していくと考えられている。微小血管内で接着した好中球は血流を障害するし、虚血によって上昇した様々なメディエーターや接着、浸潤の過程で活性化された好中球はラジカル等の産生を介して組織傷害に寄与すると予想される。

本研究ではヒトの虚血性脳血管障害の病態に近いとされるラット中大脳動脈閉塞モデルを用いて、まず、myeloperoxidase (MPO) 活性を好中球のマーカーとして、脳虚血再灌流後の好中球浸潤および組織傷害の時間経過を明らかにするとともに、ラット好中球を選択的に枯渇させることが知られている好中球枯渇抗体 (RP3) を投与したラットを用いて好中球の組織傷害における役割について検討した。その結果、1) 虚血再灌流後の脳内 MPO 活性の時間経過は組織学的に観察した好中球浸潤と一致しており、MPO 活性が好中球浸潤の指標となること、2) 脳虚血再灌流後の好中球浸潤と組織傷害の時間経過が一致すること、3) 好中球を枯渇して、組織への好中球の浸潤を抑制することによって脳虚血再灌流後の組織傷害が抑制されることが明らかになった。これらの結果は脳虚血再灌流傷害の進展に好中球が重要な役割を果たしていることを強く示唆している。

次に、好中球の脳虚血再灌流後のラジカル産生への関与を RP3 抗体によって好中球を枯渇したラットで検討した。本研究では内存性の安定なラジカル種であるアスコルビン酸ラジカル (AR) をマイクロダイアリス法で虚血領域の大脳皮質から回収し、ESR で測定することによって、ラジカル産生の指標とした。その結果、1) 脳虚血再灌流によって酸素ラジカルの産生を反映する AR が二相性に増加すること、2) 好中球の枯渇によって AR の上昇が抑制されること

が明かとなった。これらの結果は好中球が虚血再灌流時の主要なラジカルのソースの一つであることを強く示唆している。

さらに、脳虚血再灌流後の好中球の活性化および組織内浸潤の重要なステップだと思われる接着分子、特に血管内皮細胞上の ICAM-1 および好中球上の LFA-1 の脳虚血再灌流傷害への関与について抗接着分子抗体を用いて検討した。抗 ICAM-1 抗体としては 1A29 を用いた。LFA-1 は  $\alpha$  鎖および  $\beta$  鎖から成る二量体を形成するが、 $\alpha$  鎖 CD11a に対する抗体としては WT1 を、 $\beta$  鎖 CD18 に対する抗体としては WT3 をそれぞれ用いた。その結果、1) 脳虚血再灌流によって微小血管での ICAM-1 の発現が増強すること、2) ICAM-1 の発現が増強した後、白血球が浸潤すること、3) ICAM-1 および LFA-1 に対する中和抗体の投与によって虚血再灌流後の好中球浸潤が抑制され、組織傷害も有意に抑制されることが明かとなった。これらの結果は脳虚血再灌流後の好中球浸潤および組織傷害の過程に接着分子の関与が重要であることを強く示唆している。

最近の研究によって血小板活性化因子 (Platelet activating factor : PAF) が虚血再灌流傷害に関与することが明らかになりつつある。PAF は好中球からの活性酸素の放出を刺激することが報告されており、PAF による好中球でのラジカル産生の増強は thromboxane  $A_2$  (TXA $_2$ ) を介した反応であることが明かとなっている。そこで、脳虚血再灌流時の好中球の活性化における PAF および TXA $_2$  の関与についてもラジカル産生および好中球浸潤を指標として検討した。本研究において PAF 拮抗薬としては Y-24180 を、TXA $_2$  拮抗薬としては S-1452 を用いた。その結果、Y-24180 および S-1452 の投与によって 1) 脳虚血再灌流傷害が抑制されること、2) 脳虚血再灌流後のラジカル産生の増加を抑制されること、3) 虚血周縁部での好中球浸潤が抑制されることが明かとなった。これらの結果は虚血再灌流時の好中球の活性化の過程に PAF および TXA $_2$  が関与することを強く示唆している。

#### 【結 論】

- 1) 好中球が脳虚血再灌流傷害の進展に重要な役割を果たすことが明かとなった。
- 2) 脳虚血再灌流によって活性化された好中球は活性酸素種を放出することで組織傷害の進展に寄与することが推測された。
- 3) 脳虚血再灌流後の好中球の浸潤および組織傷害の過程において血管内皮上の ICAM-1 と好中球上の LFA-1 の結合が重要なステップとなることが明かとなった。
- 4) 脳虚血再灌流時の好中球の活性化に PAF および TXA $_2$  が関与することが明かとなった。

上記の結果は虚血再灌流傷害の進展における好中球の関与を明確にするとともに好中球の組織侵入と活性化を最小限にとどめる方法が虚血性脳血管障害の新しい治療法となる可能性を示唆するものである。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、虚血脳傷害の発生機作及びその薬物治療への応用を目的とし、虚血部位への好中球の浸潤と活性化による細胞傷害という観点から検討し、実証したものである。実験的脳虚血モデルにおいて虚血部位での好中球の浸潤、活性化、フリーラジカル産生が生じると併行して脳浮腫、細胞傷害が生じ、これらは抗体により好中球を枯渇した場合には見られなくなる。又、虚血部位において脳微小血管に細胞接着分子の発現が高まり、好中球はその接着により浸潤することを見出ししている。更に、虚血傷害部位の拡散が PAF、トロンボキサン  $A_2$  などの因子により生じること明らかにしている。

これらの知見は、虚血による神経細胞傷害の発生機作に新しい説を提示するもので、博士学位授与に価すると判断した。