

# Interleukin-1 receptor antagonist attenuates the severity of spinal cord ischemic injury in rabbits

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2010-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 阿久澤, 聡 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1948">http://hdl.handle.net/10271/1948</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第572号	学位授与年月日	平成22年3月15日
氏名	阿久澤 聡		
論文題目	Interleukin-1 receptor antagonist attenuates the severity of spinal cord ischemic injury in rabbits (インターロイキン-1受容体拮抗薬はウサギ脊髄虚血傷害の重症度を軽減させる)		

博士(医学) 阿久澤 聡

## 論文題目

Interleukin-1 receptor antagonist attenuates the severity of spinal cord ischemic injury in rabbits

(インターロイキン-1 受容体拮抗薬はウサギ脊髄虚血傷害の重症度を軽減させる)

## 論文の内容の要旨

### [はじめに]

脊髄虚血障害に起因する対麻痺は、胸部下行大動脈や胸腹部大動脈瘤手術における重大な合併症であり、術後急性期だけでなく、亜急性期や遅発性に発症する例も散見される。炎症性サイトカインの一つであるインターロイキン-1 (IL-1)  $\beta$  は虚血後の神経障害の拡大への関与が示唆されている。ウサギ脊髄虚血モデルにおいて、IL-1 受容体拮抗薬 (IL-1ra, anakinra) を虚血再灌流直後に投与し、2 次炎症反応抑制による脊髄保護効果を経時的に評価し検討した。

### [材料ならびに方法]

ニュージーランド白ウサギ (2.5-3.0 kg) を無作為に 3 群に分け、偽手術を施行した S 群 (n=3) を除き、他の 2 群は腎動脈下大動脈を 21 分遮断して脊髄虚血モデルを作製した。I 群 (n=20) は IL-1ra (200  $\mu$ g/0.2 mL) を、C 群 (n=20) は生理食塩水 (0.2 mL) を大動脈遮断解除直後に脊髄腔内に投与した。下肢運動機能 (Tarlov score)、病理組織学的検査[生存神経細胞数、病理組織学的傷害スコア、TUNEL 陽性神経細胞比 (TUNEL 陽性神経細胞数/全生存神経細胞数)]、脊髄液中一酸化窒素 (NO)、S100  $\beta$  濃度測定により、IL-1ra の脊髄保護効果評価を経時的に再灌流後 120 時間まで行った。

### [結果]

下肢運動機能評価では、Tarlov score は対照の C 群では進行性の悪化を認めたのに対し、I 群では虚血再灌流後 48 時間以降では有意差を持って運動機能悪化の軽減、維持が認められた (48, 72, 96, 120 時間、各々  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ )。病理組織学的評価では、C 群では著明な進行性の脊髄壊死を認めたのに対し、I 群では残存神経細胞数が有意に高く (24, 72, 120 時間、各々  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ )、病理組織学的傷害スコアが低かった (24, 120 時間、各々  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )。また、TUNEL 陽性細胞比も I 群で有意に減少を認めた (72, 120 時間、各々  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )。脊髄液中 NO は再灌流後 72, 120 時間後 ( $p < 0.05$ ) に I 群で有意に低く、S100  $\beta$  濃度は 24 時間後 ( $p < 0.05$ ) のみ有意に低値であった。

### [考察]

炎症性サイトカインである IL-1 は虚血ストレスそのものや再灌流傷害によりその発現が促進され、持続する 2 次炎症反応により神経傷害が進行するものと考えられている。虚血脊髄において IL-1 の発現が再灌流数日後まで続くことが最近報告されたが、本研究は既に臨床応用されている IL-1ra を用い、脊髄虚血に対する保護効果を初めて報告したものである。

本研究では脊髄虚血再灌流後の進行性神経傷害に対する IL-1ra の保護効果を運動機能の維持、改善を持って示した。また、傷害程度の軽減が残存神経細胞数高値、TUNEL 陽性細胞比減少により抗壊死効果、抗アポトーシス効果として裏付けされた。

複雑なサイトカインネットワークにおける虚血後の IL-1 の機序については明らかでない点も多いが、本実験ではそのシグナルに関係する細胞傷害因子として NO と S100 $\beta$  の脊髄液中濃度を測定した。IL-1 シグナルにより免疫刺激を受けたグリア細胞より産生された NO は superoxide と結合し強い細胞傷害性を持つフリーラジカル reactive nitrogen oxide radicals (ONOO $\cdot$ ) に変化することが知られている。一般的に中枢神経傷害マーカーとして知られている S100 $\beta$  は、IL-1 により産生が促され、高濃度ではグリア細胞を介し炎症を促進拡大させることが知られている。本実験においては、対照群では両因子とも持続して高値を示したのに対し IL-1ra 投与により S100 $\beta$  は 24 時間後に、NO は 72、120 時間後で有意に低下していた。これらは、虚血再灌流後に持続する炎症反応、酸化ストレスの抑制、軽減を間接的に示唆していると考えられる。

#### [結論]

脊髄虚血後の進行性神経組織傷害に対し IL-1ra の投与は保護効果を有し、神経細胞壊死およびアポトーシスを軽減させる可能性が示唆された。IL-1 を標的とした抗サイトカイン療法は、下行大動脈や胸腹部大動脈瘤手術の有用な脊髄保護手段の一つになる可能性を有すると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

胸腹部大動脈瘤手術の 5~10% に合併するといわれる脊髄虚血による対麻痺は発症の予想が困難な、また患者の QOL を大きく損なう悲惨な合併症である。症状の発生は術後急性期から見られることもあるが、亜急性期や遅発性に症状が悪化する例も見られ、異なった機序が示唆されている。炎症性サイトカインの一つであるインターロイキン 1 (IL-1)  $\beta$  は虚血後の神経障害の拡大に関与すると考えられており、申請者らは IL-1 受容体を抑制することによる脊髄保護効果についてウサギ脊髄虚血モデルを用いて検討した。

脊髄虚血モデルはウサギの大動脈を 21 分間遮断することにより作製し、遮断解除後に IL-1 受容体拮抗薬 (IL-1ra, anakinra, 200  $\mu$ g/ 0.2 mL, I 群 n=20) または生理食塩水 (0.2 mL, C 群 n=20) を髄腔内に投与した。虚血後 24 時間毎に 120 時間まで下肢運動機能を Tarlov score にて評価した。24、72、120 時間後に脊髄および脳脊髄液を採取し、病理組織学的評価 (生存神経細胞数、傷害スコア、TUNEL 陽性細胞比) および IL-1 に関連する細胞傷害因子と考えられる NO および S100 $\beta$  の髄液中濃度を測定した。

C 群の Tarlov score は進行性に悪化したが、I 群では悪化が軽減され 48 時間以降での両者の差は統計学的に有意であった。それを裏付けるように、病理組織学的評価でも I 群では C 群に比し、有意な生存神経細胞数の増加、有意な傷害スコアと TUNEL 陽性細胞比の減少を認めた。また髄液中の NO および S100 $\beta$  濃度はいくつかの時間帯で I 群において C 群より有意に低下していた。

以上より申請者らは脊髄虚血再灌流後に IL-1ra を髄液内に投与することにより IL-1 シグナルに伴う二次性炎症反応を抑制し、生存神経細胞数を増加させ、ひいては神経症状の悪化を抑制できることを示した。審査委員会では申請者らが IL-1ra の髄液内投与により脊髄の虚血再灌流傷害を軽減できることを初めて示したことを高く評価した。

以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 難波 宏樹  
副査 佐藤 重仁 副査 渡邊 裕司