

## 最終試験の結果の要旨

報 告 番 号	総 研 第	479号	学位申請者	山田 知嗣
審 査 委 員	主 査	橋口 照人	学 位	博士 (医学)
	副 査	垣花 泰之	副 査	田川 義晃
	副 査	谷口 昇	副 査	宮田 篤郎
<p>主査および副査の5名は、平成30年7月30日、学位申請者 山田 知嗣 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> <p>質問1) 神経ブロックにより炎症が亢進するのは、神経ブロックが炎症を促進するのか、それとも、炎症を抑制するのを抑えるのか。</p> <p>回答) Nav<sub>1.8</sub> ablation mice に S. aureus を投与した研究では、神経終末から calcitonin gene-related peptide (CGRP) の放出が惹起されず炎症が促進した。CGRP は炎症抑制作用を有するが、感覚神経の Nav<sub>1.8</sub> を遮断する神経ブロックは CGRP の放出を抑制することにより炎症を促進することが示唆された。</p> <p>質問2) 末梢神経ブロックに限らず、脊髄くも膜下麻酔、硬膜外麻酔についても同様の事が起こるのか。</p> <p>副交感神経も関係しているのか。</p> <p>回答) 脊髄くも膜下麻酔では末梢組織の Prostaglandin E<sub>2</sub> の発現は促進するが、後根神経節では抑制される。このことから神経原性炎症における感覚神経の賦活化は、組織炎症を抑制する意義があると考えられる。自律神経による修飾は検討されていない。</p> <p>質問3) 今回は単回投与だが、持続で行なった場合はどうか。</p> <p>回答) 末梢神経ブロックの持続投与は単回投与よりも術後痛の慢性化のリスクがあることが指摘されている。炎症や術後感染との関連については不明だが、術後アウトカムに負に作用する可能性は否定できない。</p> <p>質問4) 重症患者に対する鎮痛は末梢神経ブロックと硬膜外麻酔ではどちらが優れているのか。</p> <p>回答) 硬膜外麻酔では術後肺炎や尿路感染症のリスクが高いことが指摘されており、重症患者の易感染性や凝固能低下の観点から、末梢神経ブロックがより安全と考える。</p> <p>質問5) 局所酸素飽和度の上昇が術後創感染の発生と関係するのはどういったメカニズムか。</p> <p>回答) 組織の酸素供給は、好中球ミトコンドリアにおける活性酸素の産生を介して、その殺菌能に寄与している。また内皮細胞上の intercellular adhesion molecule-1 発現を介して好中球遊走を促進する。</p> <p>質問6) アポトーシスを起こした細胞の細胞数を2群間で比較したか。</p> <p>回答) 統計学的に有意差はなかったがロピバカイン群で多い傾向にあった。</p> <p>質問7) アポトーシスを起こしている細胞は好中球と考えてよいのか。</p> <p>回答) 術後の皮下組織への浸潤細胞は好中球が大半を占めることを報告しており、そのように考える。</p> <p>質問8) 侵襲により、末梢神経ブロック群でIL-1<math>\beta</math>、TNF-<math>\alpha</math>などが多くなるメカニズムは。マクロファージの数が増えたのか。IL-1<math>\beta</math>、TNF-<math>\alpha</math>のマクロファージからの産生が増えるのか。</p> <p>回答) 統計学的には有意差は出ていないが、マクロファージ数はロピバカインによる神経ブロックで増加しており、マクロファージ数の増加が原因と考えている。</p> <p>質問9) アポトーシス細胞を貪食しているマクロファージが増えていたのは、マクロファージが増えたことが原因か。</p> <p>回答) 15-lipoxygenase (LO) の代謝産物である lipoxin A<sub>4</sub> (LXA<sub>4</sub>) はマクロファージによる好中球のクリアランスを促進する。マクロファージのアラキドン酸カスケードが 15-LO 優位に移行したことにより、アポトーシス細胞のマクロファージによる貪食が促進したと考えられる。</p> <p>質問10) IL-1<math>\beta</math>や、TNF-<math>\alpha</math>を産生することを抑制することは創傷治癒や消炎には良くないというデータはあるのか。</p> <p>回答) 抗IL-1療法は心筋虚血後の炎症の遷延化を回避し、修復過程を改善する可能性が期待されている一方で、術前に抗TNF-<math>\alpha</math>療法を受けている患者では、術後感染のリスクが高いことが指摘されている。そのため炎症を抑制することは術後感染のリスクを上昇させる可能性がある。</p> <p>質問11) 貪食マクロファージによるアポトーシス細胞の除去を促進したと記載されているが、その根拠は Figure.4 だけか。</p> <p>回答) Figure.4 だけである。</p>				

## 最終試験の結果の要旨

質問12) 末梢神経ブロックで好中球が増加していたのは証明されているが、それが創部感染を抑制したと言えるのか。in vitro の実験系で報告は無いのか。

回答) 本研究では神経ブロックで好中球が末梢組織に誘導されており、自然免疫が増強された可能性は考えられた。好中球と手術部位感染の関連については確立されているが、本研究では指摘のとおり好中球の殺菌能を検証していない。局所麻酔薬が好中球の遊走能を抑制することは示唆されているが、細菌抗原への感受性の影響をはじめとするin vitroでの検証は不十分である。

質問13) アラキドン酸カスケードのシフトによって創傷治癒が促進された可能性を示しているが、COX2 と 15-L0 の立ち上がり時期が同じ様に見えるが、シフトしていると言えるのか。

回答) COX2 、15-L0 の最大になる時間は同時期であるが、COX2 は1時間後で10倍程度まで発現している。一方、15-L0 は1時間後で1.7倍程度であり明らかに1時間後での発現に差があることからシフトしていると考えてよいと思われる。

質問14) 術後の神経ブロックの効果持続時間は2時間程度だが、炎症性物質、抗炎症性物質における発現の時間的差異も矛盾は無いのか。

回答) 手術侵襲や痛みは交感神経系や視床下部-下垂体-副腎系の賦活化により免疫抑制を誘導するが、神経ブロックにより侵襲刺激や痛みの入力を遮断したことにより、免疫初期応答が促進され、神経ブロックの効果時間後の炎症反応においても影響が持続したものと考えられる。

質問15) 臨床上也今回の状況と同様のタイミングで神経ブロックを行うことが多いのか。

回答) 臨床上也同様に手術前に鎮痛を行うことは重要である。実際の症例も先行して鎮痛を行うことが多い。

質問16) COX2の発現が遅いのではないのか。他に要因があったのでは無いのか。もっと早期の発現があり、低下しているのを確認しているのではないのか。

回答) COX2の発現は1時間後に10倍に上昇しており、COX2 の発現が遅いとは考えにくい。また、侵襲については、両群ともに神経ブロックを行うことでそれが侵襲になっている可能性は考えられる。

質問17) ロピバカインが全身的な影響は起こしていないのか。

回答) 今回の研究では検討出来ていないが、今までの報告からすると全身性の炎症反応は神経ブロックが抑制していると考えられる。

質問18) 術後痛モデル以外での神経ブロックの検討は行っていないのか。

回答) 行っていない。慢性炎症性疼痛および神経障害性疼痛における神経ブロックの意義と作用機序は今後の課題である。

質問19) CGRP は知覚神経と炎症に大きく関与する物質だが、CGRP に関する考察は？

回答) CGRP については本研究では検討できていないが、Nav<sub>1.8</sub> ablation mice に S. aureus を投与した研究では、神経終末から CGRP の放出が惹起されず炎症が促進した。CGRPは炎症抑制作用を有するが、感覚神経の Nav<sub>1.8</sub> を遮断する神経ブロックは CGRP の放出を抑制することにより炎症を促進することが示唆された。

質問20) 温度感受性の TRP receptor は知覚神経から CGRP を放出し炎症を促進する機序があるが、ロピバカインは神経細胞に作用して、CGRP を誘導していないのか。

回答) 局所麻酔薬を創部に局注した報告では、CGRP に関しては皮膚組織での誘導は行なわれておらず、末梢のレベルでは影響はないものと考えられる。また、我々の研究でも、末梢神経ブロックのみを行なったマウスにおいて好中球の誘導は起こっていないので、局所麻酔薬の神経細胞への直接作用で炎症が惹起されたとは考えにくい。

質問21) M1、M2マクロファージについては今後の検討課題と捉えてよいのか。

回答) 今回の研究では神経ブロックのM1/M2バランスへの影響が検討しておらず、創傷治癒との関連性は不明である。我々はM2マクロファージが減少する慢性炎症の病態では、術後痛が遷延することを報告しており、M1/M2 バランスが慢性痛への移行にも影響している可能性があるため、神経ブロックの予防効果について今後検討したい。

質問22) マクロファージについては、M1、M2 マクロファージの関与はどうなっているか。

回答) 食食活性をもったマクロファージは M2 と考えられ、末梢神経ブロックを行うことで、早期に誘導される結果が示された、また、15-L0 はマクロファージの極性を M2 へシフトする。ロピバカイン群で 15-L0 の発現が亢進していることから LXA<sub>4</sub> 優位の M2 マクロファージの浸潤が促進していることが示唆される。

質問23) IL-10 の検討、考察は行なったか。

回答) IL-10 は主に M2 マクロファージから産生され、炎症性筋性痛モデルにおいて鎮痛作用があることが報告されているが本研究では行っていない。今回、神経ブロック効果消失後に鎮痛が持続しなかったため、以前の研究の結果から考えるとIL-10 の誘導には影響しなかった可能性がある。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。