

論文審査の要旨

| | | | | |
|------|-----------|-------|-------|--------------|
| 報告番号 | 総研第 585 号 | 学位申請者 | 今釜 逸美 | |
| 審査委員 | 主査 | 大石 充 | 学位 | 博士(医学・歯学・学術) |
| | 副査 | 金藏 拓郎 | 副査 | 垣花 泰之 |
| | 副査 | 西 順一郎 | 副査 | 伊藤 隆史 |

Protective effects of recombinant human soluble thrombomodulin on ischemia reperfusion injury of the spinal cord in rabbits

(遺伝子組み換えトロンボモジュリンの虚血再灌流障害に対する脊髄保護効果)

胸部下行や胸腹部の大動脈瘤手術において、脊髄虚血再灌流障害による対麻痺は重篤な合併症である。その予防として外科的、薬物的なさまざまな脊髄保護法が試みられてきているが、未だ確立された方法はない。患者の状態や解剖、手術手技に関係なく投与できる有効な薬剤があれば、極めて有用である。

肝・腎の虚血再灌流障害に対して、抗炎症作用を持つ遺伝子組み換えトロンボモジュリン(recombinant human soluble thrombomodulin: rhtTM)の保護効果が報告されている。そこで学位申請者らは、ウサギの脊髄虚血モデル(in vivo)と神経細胞モデルのPC12細胞(in vitro)で、脊髄の虚血再灌流障害に対するrhtTMの保護効果を検討した。

In vivo: 22羽のNew Zealand white rabbitsを等しく2グループに分けた。大動脈遮断前30分間で経静脈的に生食20mL(C群: n=11)またはrhtTM(6mg/kg)+生食/20mL(T群: n=11)を投与した。左腎動脈直下と大動脈分岐部直上の大動脈、後腸間膜動脈起始部を遮断し、30分間の脊髄虚血とした。操作中は観血的動脈圧、心電図、心拍数、直腸温のモニタリングを継続、間欠的に血液ガスを測定した。大動脈遮断解除48時間後に後ろ脚の運動機能評価をmodified Tarlov score(0:対麻痺、1:体重を支えられないが自動運動可能、2:歩けないが体重は支えられる、3:著しい痙性/運動失調だが歩行可能、4:弱い痙性/運動失調だが走行可能、5:正常)で行った。In vitro: 神経細胞モデルとしてラット副腎髄質由来褐色細胞腫由来のPC12細胞を、rhtTM非投与群(N群)と1 μ g/mL、10 μ g/mLのrhtTM投与群(A1, A2群)とに分け、210分間の低酸素低グルコース(OGD)の虚血病態とした。24時間後の細胞生存率をMTT法で測定した。

In vivoの2群間で大動脈遮断前・遮断後・再灌流後の平均動脈圧、心拍数、直腸温、pH、PaO₂、PaCO₂に有意差はなかった。Tarlov scoreの結果は、C群の8羽がgrade 0、3羽がgrade 5、T群の2羽がgrade 0、9羽がgrade 5で、平均はT群で4.09 \pm 2.02、C群で1.36 \pm 2.33で、有意にT群で高値であった(p=0.008)。ウサギ脊髄虚血モデルにおいてrhtTMの遮断前投与による対麻痺の予防効果が示唆された。In vitroでは、細胞生存率はA2群115.9 \pm 4.7%、N群100 \pm 5.0%と、A2群が有意に高かった(p=0.0476)。神経細胞虚血モデルにおいて、rhtTMの保護作用が示唆された。

大動脈手術の重篤な合併症である対麻痺は、大動脈の遮断と解除に伴う脊髄の虚血再灌流障害と考えられ、炎症反応の重要性が指摘されている。炎症反応に関与している血管内皮細胞や好中球、マクロファージ、タンパク分解酵素やフリーラジカルなどに作用する薬剤の脊髄保護効果も報告されている。トロンボモジュリン(TM)は、血管内皮細胞上に存在する一本鎖の糖タンパク質で、抗凝固作用だけでなく、抗炎症反応も有することが報告されており、rhtTMはDIC治療薬として臨床で使用されている。本研究でrhtTMの虚血再灌流障害の軽減、脊髄保護効果がin vivo, in vitroともに示唆された。その臨床応用には副作用を考慮した投与量や投与時期に関する更なる実験、評価が必要であるが、ウサギ脊髄虚血モデルのrhtTMの保護効果を示した初めての研究であり、その作用機序の解明と臨床応用が期待される。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。