

学位論文の要旨

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院医学系研究科 乙 生命医科学専攻 臨床医学系講座 運動器外科学・腫瘍集学治療学分野	氏 名	横山 弘和 <small>よこやま ひろかず</small>
-----	--	-----	-----------------------------------

主論文の題名

Inhibitory effect of edaravone on systemic inflammation and local damage in skeletal muscles following long-term ischemia to murine hind limb

主論文の要旨

【目的】骨格筋の虚血再灌流障害は局所損傷による炎症性メディエーターや酸化ストレスマーカーの漏出により急性腎不全などの合併症を引き起こす。虚血再灌流障害は四肢を駆血した動物モデルで研究されているが、有用な薬物療法はない。われわれは脳梗塞の治療薬として臨床応用されているフリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンに注目し、先行研究で 1.5 時間の骨格筋虚血再灌流障害でエダラボンの投与が脂質過酸化、炎症細胞浸潤を有意に低下させ筋保護効果があることを示した。本研究では長時間虚血による筋挫滅と再灌流後の全身性合併症に対するエダラボンの効果を検討した。

【方法】Crawford の報告に準じて C57/BL6 マウスの右大腿近位部を 4.5 oz の歯科矯正用輪ゴムを用いて駆血した。駆血 30 分前にエダラボン 3mg/kg(E 群)または同量の生食(S 群)を腹腔内投与した。4 時間でゴムを除去し再灌流後 0,2,12,24,48,72 時間で血漿を分離し、腎臓、腓腹筋(GC)、前脛骨筋(TA)を摘出した。GC,TA(各 n=5 0,2,12,24,48,72 時間)を Hematoxylin Eosin(HE)染色し、損傷率を組織学的に評価した。アポトーシスは TdT-mediated dUTP nick end labeling(TUNEL)染色と caspase3/7 活性で評価した。Tumor Necrosis Factor(TNF)- α は心臓から採血後血液を遠心分離し、上澄をエライザで定量した。腎組織は HE 染色し、皮質領域の尿細管細胞の空胞変性の程度を点数化して評価した。

【結果】組織学的に GC,TA とともに 12 時間より損傷され、24 時間で著明、72 時間まで増大したが、損傷率は両群の各時間での差はなかった。TUNEL 染色では S 群で 2 時間から陽性細胞が増加し、12 時間で最大、その後減少するも、E 群で 12 時間まで有意にアポトーシスが抑制された。また caspase3/7 は 12 時間以降 E 群で有意にアポトーシスが抑制された。また TNF- α は 24 時間以降 E 群で有意にその発現が抑制され、さらに尿細管細胞障害は 48 時間以降 E 群で抑制される傾向にあった。

【考察】さまざまな組織において不可逆的となる虚血時間が報告されているが、骨格筋は 3~4 時間と他の組織と比較し非常に虚血に弱い。しかし、先行研究で 1.5 時間

の虚血でエダラボンの筋保護効果が示されたため3時間以上の虚血においてもエダラボンは骨格筋の虚血再灌流障害を抑制するという仮説を立て実験を行った。予想に反し4時間という長時間の虚血ではエダラボン単回投与による筋細胞死の抑制は困難であった。そこで、筋細胞死メカニズムについて検討した。虚血再灌流障害の細胞死はネクローシス主体と考えられていたが、近年ではさまざまな臓器の虚血再灌流障害の研究でアポトーシスが細胞死の主体であることがわかってきた。本研究でもアポトーシスが認められ、エダラボン投与により TUNEL では遅延し、caspase では有意に抑制されることが示された。また、TNF- α は細胞の生存、成長、分化、アポトーシス、炎症、血管新生など多機能を持ったサイトカインとして知られている。さらに TNF- α は筋損傷後の炎症に伴い増加し、腎臓や肺の炎症やアポトーシスの主体となることが報告されている。さまざまな臓器の虚血再灌流障害においてエダラボンが TNF- α の発現を抑制するという報告があるが、骨格筋の虚血再灌流障害に対するエダラボンの TNF- α 発現抑制効果の報告は渉猟できなかった。本研究ではエダラボン投与により24時間以降の TNF- α 発現の有意な抑制を示すことができ、このことからエダラボン投与が全身性酸化ストレス障害による炎症のみならず局所のアポトーシスの抑制にも関与した可能性が示唆された。

【結論】本研究では長時間虚血による筋挫滅と再灌流後の全身性合併症に対しエダラボン投与が有用である可能性が示唆された。