

学位論文の要旨

三 重 大 学

所 属	乙 三重大学医学部附属病院 (耳鼻咽喉・頭頸部外科学)	氏 名	宮村 朋孝
<p>主論文の題名</p> <p>Blockade of interleukin-6 receptor suppresses inflammatory reaction and facilitates functional recovery following olfactory system injury</p> <p>主論文の要旨</p> <p>最近の 20 年間に嗅覚に関する基礎研究がめざましく進歩しており、嗅覚障害に取り組む医療施設も年々増加している。これまで外傷性嗅覚障害は予後が悪いと考えられてきたが、本来嗅神経は他の脳神経と比較して強い再生能力を備えていて、鼻副鼻腔炎が原因の炎症性嗅覚障害の改善率は 70～80% と高いことが明らかにされている。その一方で、嗅神経の物理的損傷が原因である外傷性嗅覚障害の予後は悪く、交通外傷例における嗅覚障害の改善率は 10～30% と低い。</p> <p>近年、ステロイド薬に代わる抗炎症物質として、抗インターロイキン 6 受容体抗体 (抗 IL-6 R 抗体) が注目されている。抗 IL-6 R 抗体はマクロファージなどから放出される炎症性サイトカイン IL-6 の受容体を阻害することにより、炎症反応を抑制する。最近、抗 IL-6 R 抗体であるトシリズマブはキャッスルマン病や慢性関節リウマチなどの難治性炎症性疾患の治療薬として医療保険適用も認可されている。また、神経学的分野においては、脊髄切断後のマウスにおいて、抗 IL-6 R 抗体が傷害局所に生じるマクロファージ浸潤とグリア瘢痕を抑制し、脊髄再生が促進されたという報告がある。外傷性嗅覚障害の治療に抗 IL-6 R 抗体を応用すれば、局所炎症が抑制され、外傷例嗅覚障害例の嗅覚回復、改善率、予後の向上が理論的に可能と期待できる。</p> <p>今回の研究は、外傷性嗅覚障害モデル動物を用いて、嗅神経切断後の嗅神経再生促進に抗 IL-6 R 抗体が有効であるかどうかを明らかにする目的で計画した。実験動物として、組織学的に嗅神経を容易に視覚的に確認可能な遺伝子組み換えマウスである OMP-tau-lacZ マウスを用いた。マウスにペントバルビタールを腹腔内注射して全身麻酔し、固定器で固定し、前頭開頭を行い、嗅球と篩板を露出させて、ステンレスカッターを一側の篩板と嗅球との間に挿入して嗅神経を切断した。対側は対照としてそのままとした。止血後、閉頭し、動物を覚醒させた。術直後にラット抗マウス IL-6 R 抗体である MR16-1 を腹腔内注射した。低容量、高容量の 2 種類の投与群と対照群として生食投与群の 3 群を設けた。術後 5 日目、14 日目、42 日目、70 日目に、それぞれマウスをパラホルムアルデヒドで還流固定し、頭部骨を EDTA で脱灰後、組織切片を作成し、各種染色を行い、CCD カメラでデジタル画像化し、嗅神経の再生、グリア</p>			

癒痕形成、マクロファージの局所浸潤などの程度を定量化して測定、これにより、抗 IL-6 R 抗体の効果を調べるとともに、その用量依存性もあるか否かを確認した。嗅神経の確認には X-Gal 染色にて嗅神経と嗅球系球体を可視化した。グリア癒痕と組織全体の確認にはニュートラルレッド染色を用いた。またグリア癒痕内の活性化星状膠細胞の確認には抗 GFAP 抗体を用いた免疫染色を行った。マクロファージの確認にはマクロファージ特異的な抗 CD68 抗体で免疫染色を行い、確認した。

組織学的検討の結果、MR16-1投与群はコントロールのIgG投与群と比較して、濃度依存性にグリア癒痕形成と炎症細胞浸潤を抑制し、嗅神経再生を促進させることが明らかになった。行動学的実験は、マウスがナラマイシン（シクロヘキシミド）に対して忌避行動をとる習性を利用した。嗅覚嫌悪学習が成立したマウスに対して、同様の嗅神経切断実験を施行した結果、MR16-1投与群はIgG投与群よりも有意に多くの嗅覚回復例が認められた。さらにこの裏付けとして、嗅粘膜を電気刺激し、嗅球内で Field potential（電場電位）を記録する電気生理学実験も施行した。その結果、MR16-1投与マウスでは、その多くで Field potential が回復しており、IgG投与群と比較してField potentialが有意に大きかった。また、両群のうち、行動学的実験で嗅覚機能回復を認めた群と嗅覚機能不変群のマウスを比較すると、嗅覚機能回復群では不変群よりも有意にField potential が回復していた。

以上の結果から、抗 IL-6R 抗体は実際に臨床応用できる外傷性嗅覚障害の有効な治療薬の候補であると考えられた。