

外傷性脳損傷修復過程における環状ホスファチジン酸 (2ccPA) の機能解析

氏名 中島 麻里

外傷性脳損傷(Traumatic Brain Injury: TBI)は、交通事故や転落により、頭部に物理的な損傷を受けることによって生じ、脳の構造や機能が破壊される脳神経外傷の一つである。TBIにより、軸索損傷や血管損傷がもたらされ、血液脳関門の破壊が引き起こされる（一次損傷）だけでなく、脳の炎症や神経細胞死が誘発される（二次損傷）。損傷が運動機能障害や言語障害などの後遺症をもたらすため、全世界で年間 1000 万人以上の TBI 関連患者が増加し、毎年 5 万人近くの方が TBI 関連死をしている。そのようななかで、現在、TBI 治療は対症療法のみ状況であり、脳の炎症や神経細胞死を抑制する根本的な治療薬が求められている。

治療薬の候補の一つに、生理活性脂質リゾホスファチジン酸(Lysophosphatidic Acid: LPA) と類似した化学構造をもち、LPA と拮抗する機能をもつ類似化合物である、環状ホスファチジン酸 (cyclic Phosphatidic Acid: cPA) がある。TBI 患者の脳脊髄液での LPA レベルが増加し、TBI モデルマウスにおいて LPA シグナル経路を阻害すると炎症が抑制されることが知られている。

このことから、cPA が TBI における炎症を抑制し、治療薬としての効果を有するのではないかと考えた。本研究では、cPA の *sn*-2 位のリン酸基をメチレン基に置換した、cPA 誘導体である 2-carba-cPA(2ccPA)を使用する。2-carba-cPA(2ccPA)は、cPA の多くの生物学的機能を効率的に再現することが実証されている。

本研究の目的は、TBI の治療において 2ccPA が有効な因子であることを解明すること及び治療薬としての応用を目指すために、TBI における血液漏出、炎症、神経細胞死に対する作用メカニズムを解明することである。TBI モデルマウスとして、全身麻酔下で大脳皮質に針を刺す穿刺脳損傷モデルマウスを作成し、1 日ごとに 2ccPA を投与し続けたマウスと、生理食塩水を投与し続けたコントロール群を比較した。損傷後 1 時間、1 日、3 日、5 日、7 日後に安楽死させ、脳を摘出し解析を行った。

まず、一次損傷である血液漏出への 2ccPA の効果に着目した。2ccPA が投与されたマウスの脳損傷部位の組織切片において、血液漏出の指標となる血清中の免疫グロブリン IgG に対する染色を行い、発色強度から脳損傷部の修復の速さを測定した結果、血清 IgG 量は損傷直後から有意に減少した。

次に、二次損傷における炎症に対する 2ccPA の効果を検証した。脳損傷時、脳のグリア細胞が炎症誘導に深く関与することが知られている。そこで、炎症度の指標として、グリア細胞の一種であるミクログリア及びアストロサイトに着目した。マウスの脳損傷部位の組織切片において、ミクログリア及びアストロサイトの活性化を調べるために、ミクログリアマーカーである *Iba1* 及びアストロサイトマーカーである *GFAP* の発現レベルを、酵素抗体法、蛍光染色法にて解析した。その結果、2ccPA はミクログリア及びアストロサイトの活性化を抑制し、炎症修復に寄与していることが明らかになった。さらに、

2ccPAの炎症抑制機構として、ミクログリアの活性化抑制時、2ccPAはミクログリアを炎症性型から抗炎症性型に極性変化を促すことが明らかになった。

最後に、二次損傷における神経細胞死への2ccPAの効果及びその作用機構について解析を行った。マウスの脳損傷部位の組織切片における神経細胞死数を、神経細胞マーカーであるNeuNと、細胞死マーカーであるCleaved Caspase3の発現から検討した。その結果、2ccPA投与群で神経細胞死数が有意に減少していることがわかった。さらに、2ccPAがアストロサイトを介して神経保護作用を示すという決定的な証拠を発見し、その詳細なメカニズムとして、アストロサイトから発現する、細胞外マトリックスタンパク質の一つであるテネイシンCが神経保護性を引き起こす主要因子であることを明らかにした。

本研究により、TBIにおいて2ccPAの止血効果、炎症抑制効果及び神経保護作用があることが明確になったことは、2ccPAを応用したTBI患者の諸疾患の根本的な治療薬の開発につながる可能性がある。また、2ccPAの炎症抑制及び神経保護効果の作用機序として、脳のグリア細胞を介するという新たな知見は、脳におけるグリア機能研究の前進に寄与するものである。本研究成果は、脳におけるグリア細胞を標的としたTBI治療薬として、医療の発展のための基礎研究となることが期待される。