

主論文の要旨

Targeting Anti-Inflammatory Treatment Can  
Ameliorate Injury-Induced Neuropathic Pain

〔抗炎症治療を標的とすることは神経障害性疼痛を改善する〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻

運動・形態外科学講座 手の外科学分野

(指導：平田 仁 教授)

岩月 克之

## 【目的】

末梢神経損傷時に Tumor Necrosis Factor(TNF)- $\alpha$  はマクロファージを神経損傷部に誘導し、ワーラー変性を導くが、一方 TNF- $\alpha$  阻害剤により、神経再生や疼痛の改善につながるという報告もある。過去の報告では、後根神経節 (DRG) や脊髄レベルでの評価がされることが多く神経損傷部自体での変化はあまり知られていない。今回我々は TNF- $\alpha$  阻害剤の末梢神経障害に対する効果を、神経損傷部で評価することを目的とした。

## 【方法】

オスのルイスラット(250g)の右坐骨神経に対し、脳動脈瘤クリップ (1.5N) で 5 分間はさむ crush モデルを作成した。皮膚切開のみの sham 群、crush したラットに生理食塩水を同時に投与する control 群、crush したラットにエタネルセプトを同時に投与するエタネルセプト群の 3 群に分け、エタネルセプト投与は crush モデル作成時に 6mg/kg を腹腔内注射した。

電気生理学的検査は手術後 7 日目、21 日目、35 日目に坐骨神経伝導速度を測定した。前脛骨筋を用い運動神経伝導速度(motor nerve conduction velocity:MCV) を算出した。前脛骨筋筋湿重量を測定し、体重で補正した。疼痛行動評価は mechanical hyperalgesia に対し von Frey test, thermal hyperalgesia に対し plantar test を行った。坐骨神経機能評価は自動歩行解析装置である Cat Walk を用い、坐骨神経機能指数である Sciatic functional Index (SFI) を算出した。遺伝子発現検査は坐骨神経及び DRG を採取し、mRNA を抽出し、cDNA を合成後、real-time PCR を行った。坐骨神経損傷部において、サイトカインである TNF- $\alpha$ 、interleukin(IL)-6、IL-1 $\beta$ 、マクロファージ遊走因子である monocyte chemoattractant protein (MCP)-1、プリン作動性受容体である P2RX7 を測定し、DRG において電位依存性ナトリウムチャンネルである Nav1.3, 1.8, 1.9 を測定した。蛋白の発現は Enzyme-linked Immunosorbent Assay(ELISA)を用い行った。免疫染色はマクロファージのマーカーである ED1 の抗体を用い坐骨神経損傷部に染色を行った。統計は分散分析を用い P 値が 0.05 以下を有意差ありと判定した。

## 【結果】

神経損傷後 7 日目では神経伝導速度は計測不能であったが、エタネルセプトを投与することによって 21 日目の計測は回復が促進されていた。前脛骨筋筋湿重量測定、SFI においても 21 日目においてエタネルセプトを投与することにより回復が促進された。

疼痛の評価では von Frey test、plantar test とともに 21 日の時点において有意にエタネルセプト投与群で改善していた。

遺伝子発現検査、蛋白発現検査において、エタネルセプトは TNF- $\alpha$  自体の発現を抑制する効果は少なく、IL-6、MCP-1、電位依存性ナトリウムチャンネルの変化をおさえていることが示された。

坐骨神経損傷後 1 週での免疫染色では損傷部において ED1 陽性細胞がコントロール、エタネルセプトの両群で見られたものの、損傷後 3 週の坐骨神経損傷部においてはエタネルセプト群で消失していた。

### 【考察】

TNF $\alpha$  は神経損傷時において、シュワン細胞を含むグリア細胞、マクロファージや肥満細胞によって産生され、マクロファージを損傷部位へ導き、ワーラー変性の開始を主導し神経機能の回復に対し重要な役割を果たす。しかし近年、過剰な TNF- $\alpha$  は、神経の回復を阻害し、抗 TNF- $\alpha$  療法により、神経機能の回復が促進されるという報告が見られ、この一見矛盾する諸説が、神経損傷における TNF- $\alpha$  の役割の複雑さを物語っている。

今回我々は、過去の報告を検討し、神経損傷と同時にエタネルセプト 6 mg/kg を腹腔内注射で投与した。この治療の結果、運動機能の回復および疼痛の改善が見られ、抗 TNF- $\alpha$  は神経機能の回復を促進していることが確認できた。過去の報告においては、TNF- $\alpha$  は坐骨神経損傷後 1 から 3 日でピークを迎え 7 日でベースラインに戻ると報告されている。今回の結果においても同様であり、エタネルセプトの使用によって TNF- $\alpha$  の発現を抑制する効果は少ない。しかし他のサイトカインである IL-6 の低下や、マクロファージ遊走因子である MCP-1 の抑制、疼痛に関与するとされる ATP レセプターや電位依存性ナトリウムチャンネルの変化をおさえることが示され、同時に疼痛閾値の改善が見られることからエタネルセプト投与による疼痛改善の役割が証明された。

TNF- $\alpha$  はワーラー変性の開始時に不可欠なサイトカインであり、TNF- $\alpha$  の完全な抑制は逆に神経回復を傷害する可能性は考えられる。しかし、神経損傷部の免疫染色において、損傷後 1 週の時点では、両群でマクロファージが存在しており、マクロファージの遊走を阻害はしていないことが示された。3 週の時点においてエタネルセプト投与群でマクロファージが減少していることから、神経損傷時のエタネルセプト投与は、ワーラー変性、マクロファージの初期遊走を阻害はせず、過剰なマクロファージの活動を抑制している可能性が示唆された。同時に運動機能、疼痛の両面が改善しており、適切な抗 TNF- $\alpha$  療法は神経機能の回復をもたらすと考えられる。

今回我々はエタネルセプト全身投与における、神経損傷部位での変化を検証した。しかしエタネルセプト全身投与による、神経機構と炎症性サイトカインネットワークも存在し、さらなる全身での影響の評価が課題である。

### 【結論】

TNF- $\alpha$  は神経損傷時にワーラー変性を起こすために必要なサイトカインだが、過剰な TNF- $\alpha$  は神経障害を遅延させる可能性が考えられる。適切に TNF- $\alpha$  のコントロールをすることができれば、マクロファージを制御し、神経再生を促進し、疼痛を防止することが可能になる。