

氏名	さわ だ ひで ゆき 澤 田 秀 幸
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 1891 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	A role of glutamate-induced cytotoxicity in mesencephalic dopaminergic neuronal death. (中脳ドーパミンニューロン死におけるグルタミン酸誘発細胞毒性の役割に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 三 好 功 峰 教 授 柴 崎 浩 教 授 木 村 淳

論 文 内 容 の 要 旨

パーキンソン病におけるドーパミンニューロンの変性機序の解明を目的として、ラット中脳神経細胞培養を用いて以下の検討を行った。

中脳ドーパミンニューロンでは、カテコラミン代謝過程で産生される酸素ラジカルが変性に関与している可能性(酸化ストレス仮説)が指摘されている。グルタミン酸は神経伝達物質の1つだが、過剰量ではラジカルを産生させ、酸化ストレスのモデルとなりうる。この点に注目し、グルタミン酸負荷による神経細胞死について検討した。その結果、グルタミン酸が、ドーパミン(DA)、非ドーパミン(ND)ニューロンの両者に同等の神経細胞死をもたらすこと、このグルタミン酸毒性が、NMDA型受容体を介することが示された。また、あらかじめ、単独では毒性を示さない低用量の methylphenylpyridium ion(MPP⁺)で処置すると、DAニューロンのみがグルタミン酸毒性に脆弱になることが示された。MPP⁺処置によりミトコンドリア複合体I活性が抑制されること、また、パーキンソン病患者の中脳DAニューロンでもミトコンドリア複合体I活性が低下していることから、パーキンソン病のDAニューロンがグルタミン酸毒性に脆弱となっており、本疾患の変性過程にグルタミン酸誘発神経細胞死が関与している可能性が示唆された(第1報)。

大脳皮質ニューロンを用いた検討では、グルタミン酸誘発神経毒性が、細胞内一酸化窒素(NO)合成を介していることが示されている。そこで、中脳神経細胞に対するグルタミン酸誘発神経毒性におけるNOの関与について検討した。その結果、NDニューロンに対してはNOを介するのに対し、DAニューロンに対してはNOを介しておらず、DAニューロンとNDニューロンとでは、グルタミン酸毒性の発現機序に違いのあることが示された。また、NDニューロンはNO毒性に脆弱であるのに対し、DAニューロンはNO毒性に耐性を有することが示された(第2報)。

ついで、DAニューロンがNO毒性に耐性を有する機序を検討した。NOは、superoxide anion(O₂⁻)

の存在下では、peroxynitrite anion(ONOO^-)に速やかに変換され神経毒性を呈するが、酸化されるとnitrosonium ion(NO^+)となり、神経保護的に働くことが報告されている。したがって、DAニューロンでは、NOが NO^+ へ変換されているか、あるいは O_2^- 濃度が低く、 ONOO^- への変換が抑制されているか、いずれかの可能性がある。NO生成試薬に還元薬を加え、 NO^+ への変換を抑制した状態でもDAニューロンはNO毒性に耐性を示した。一方、 ONOO^- 生成試薬は、DAニューロン、NDニューロンに対し、同等の神経毒性を示した。これらの結果は、DAニューロン内では、 O_2^- 濃度が低く抑えられ、NOが ONOO^- に変換されないためにNOが毒性を呈さないことを示している。また、 MPP^+ は細胞内の O_2^- が増大させることから、単独では毒性を呈さない低用量の MPP^+ 前処置後のNO毒性を検討した。前処置後は、DAニューロンがNO毒性に脆弱となることが示された。パーキンソン病の脳でも、ミトコンドリア複合体Iの活性が低下していることが報告されており、パーキンソン病脳の変性過程では、本来、NO耐性を有するドーパミンニューロンがNO毒性に脆弱となっておりNOが変性の過程に関与している可能性が示唆された(第3報)。これらの所見は、パーキンソン病におけるドーパミンニューロン死に、グルタミン酸誘発神経毒性、特にNO誘発神経毒性が関与している可能性を示唆している。

論文審査の結果の要旨

パーキンソン病は中脳黒質ドーパミンニューロン死が原因とされるがその機序には不明な点が多い。本申請者は、酸素ストレス実験モデルの1つであるグルタミン酸負荷を課した場合のドーパミンニューロン死について検討した。ラット腹側中脳神経細胞の初代培養を用いた実験では、過剰量のグルタミン酸(Glu)がNMDA型受容体を介して、ドーパミンニューロン、非ドーパミンニューロンに作用し、同等の細胞死をもたらした。しかし、非ドーパミンニューロンに対するGlu毒性が一酸化窒素(NO)を介しているのに対し、ドーパミンニューロンに対するGlu毒性はNOを介しておらず、両者で発現機序が異なっていた。また、非ドーパミンニューロンはNO暴露により細胞死を起こすが、ドーパミンニューロンは、superoxide anionレベルが低く抑えられてNOがperoxy-nitrite anionに変換されていないためNOの暴露に耐性を示した。しかし、あらかじめ低容量のmethylphenylpyridium ion(MPP^+)で処理しておく、ドーパミンニューロンに対するGlu毒性、NO毒性が増強された。この所見は、 MPP^+ 処理でミトコンドリア複合体I活性を低下して得られたパーキンソン病疾患モデルでは、本来NO耐性を有する中脳ドーパミンニューロンが脆弱になっていることを示唆する。

これらの結果は、パーキンソン病におけるGlu毒性およびNO毒性の理解に貢献し、ドーパミンニューロン死の機序の解明に寄与する。

従って、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成9年2月18日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。