

氏 名	かん き り え 神 吉 理 枝
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2910 号
学位授与の日付	平 成 17 年 9 月 26 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 脳 統 御 医 学 系 専 攻
学位論文題目	Effects of mitochondrial dysfunction on glutamate receptor-mediated neurotoxicity in cultured rat spinal motor neurons (ラット培養脊髄運動ニューロンにおけるグルタミン酸受容体を介した神経毒性に対するミトコンドリア機能不全の影響)
論文調査委員	(主 査) 教 授 金 子 武 嗣 教 授 福 山 秀 直 教 授 大 森 治 紀

### 論 文 内 容 の 要 旨

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は上位・下位の運動ニューロンの選択的な障害を特徴とする神経変性疾患である。家族性 ALS の原因遺伝子はいくつか同定されているものの、孤発性 ALS のケースも含め、病態は解明されていない。ALS における選択的運動ニューロン死の機序として、グルタミン酸による興奮毒性が想定されている。また ALS 患者において、運動ニューロンのミトコンドリア機能異常も指摘されている。

本研究ではミトコンドリア機能異常とグルタミン酸興奮毒性による運動ニューロン死の関連を明らかにすることを目的とした。方法として、ラット胎仔初代培養脊髄運動ニューロンにおいて、電子伝達系阻害薬によりミトコンドリア機能障害を誘発した。次に、その条件下において、グルタミン酸受容体を介する興奮毒性に対する運動ニューロンの脆弱性を検討した。

電子伝達系複合体 I の阻害薬、ロテノン、II の阻害薬、マロネートに対し、運動ニューロンは非運動ニューロンと比較して選択的に脆弱であった。一方、電子伝達系複合体 III の阻害薬、アンティマイシンに対し、運動ニューロンは選択的脆弱性を示さなかった。ロテノンの細胞毒性は非 NMDA 型グルタミン酸受容体阻害薬・CNQX で阻止されたが、NMDA 型グルタミン酸受容体阻害薬・MK-801 では阻止されなかった。マロネートの細胞毒性は CNQX 及び MK-801 のいずれによっても阻止された。一方、アンティマイシンの細胞毒性は、いずれのグルタミン酸受容体阻害薬によっても影響を受けなかった。

非致死濃度のロテノンを運動ニューロンに負荷し、ミトコンドリア電子伝達系複合体 I に軽度の機能障害を惹起した条件下では、運動ニューロンに対する非 NMDA 型グルタミン酸受容体アゴニスト・AMPA の毒性が増強された。一方、非致死濃度のマロネートは、AMPA 及び NMDA 型グルタミン酸受容体アゴニスト NMDA 両者の毒性を増強した。これらの結果から、電子伝達系複合体 I ないし II が機能障害を受けている状況下では、グルタミン酸受容体を介する運動ニューロンに対する興奮毒性が増強されることが示唆された。また、複合体 I の機能障害は AMPA の興奮毒性を増強し、複合体 II の機能障害は AMPA 及び NMDA 両者の興奮毒性を増強したことより、機能障害を受けるミトコンドリア複合体の種類が、毒性を仲介するグルタミン酸受容体の種類を決定していることが示唆された。

本研究に用いたすべての電子伝達系阻害薬による運動ニューロン死は、L 型電位依存性カルシウムチャネルの阻害剤・ニフェジピンによって阻止された。これより、このチャネルからのカルシウムの流入が、運動ニューロン死の選択性には関与しないが、細胞死そのものには関わっていると考えられた。

本研究において、ミトコンドリア電子伝達系の機能異常の存在下では、運動ニューロンのグルタミン酸受容体を介する興奮毒性に対する選択的脆弱性が増強されることが示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究はミトコンドリア機能異常とグルタミン酸興奮毒性による運動ニューロン死の関連を明らかにすることを目的とし

た。ラット胎仔初代培養脊髄運動ニューロンにおいて、電子伝達系阻害薬によりミトコンドリア機能障害を誘発した。次に、その条件下で、グルタミン酸受容体を介する興奮毒性に対する運動ニューロンの脆弱性を検討した。電子伝達系複合体Ⅰの阻害薬、ロテノン、Ⅱの阻害薬、マロネートに対し、運動ニューロンは非運動ニューロンと比較して選択的に脆弱であった。一方、電子伝達系複合体Ⅲの阻害薬、アンティマイシンに対し、運動ニューロンは選択的脆弱性を示さなかった。ロテノンの細胞毒性は非NMDA型グルタミン酸受容体阻害薬・CNQXで阻止されたが、NMDA型グルタミン酸受容体阻害薬・MK-801では阻止されなかった。マロネートの細胞毒性はCNQX及びMK-801のいずれによっても阻止された。一方、アンティマイシンの細胞毒性は、いずれのグルタミン酸受容体阻害薬によっても影響を受けなかった。非致死濃度のロテノンを運動ニューロンに負荷した条件下では、AMPAの毒性が増強され、非致死濃度のマロネートはAMPA及びNMDA両者の毒性を増強した。電子伝達系阻害薬による運動ニューロン死は、L型電位依存性カルシウムチャネルの阻害剤・ニフェジピンによって阻止された。このチャネルからのカルシウムの流入が、運動ニューロン死の選択性には関与しないが、細胞死には関わっていると考えられた。

以上の研究は筋萎縮性側索硬化症の病態解明に貢献し、その治療の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成17年8月2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。