

氏 名	たか はし まさ やす 高 橋 正 泰
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	論 薬 博 第 606 号
学位授与の日付	平 成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	AMPA受容体拮抗作用を有する薬物の脳虚血における神経細胞保護作用 に関する研究

(主査)

論文調査委員	教 授 佐 治 英 郎	教 授 赤 池 昭 紀	教 授 佐 藤 公 道
--------	-------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

グルタミン酸受容体サブタイプのひとつである2-amino-3-(3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-yl) propionic acid (AMPA) 受容体は脳虚血時の神経細胞障害発現に深く関与していることが示唆されている。しかし、2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo[f]quinoxaline (NBQX) に代表される第一世代のAMPA受容体拮抗薬は、水溶性が非常に低いため、腎毒性を誘発することから、その使用が制限されており、現在までのところ、脳虚血病態でのAMPA受容体の役割が十分に解明されるには至っていない。そこで著者は、この水溶性を改善すべく創製された新規化合物 [2,3-dioxo-7-(1H-imidazol-1-yl)-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydroquinoxalin-1-yl] acetic acid monohydrate (YM872) について、その薬理学的性質および脳虚血モデル動物における神経細胞保護作用を検討することによって、脳虚血障害におけるAMPA受容体の関与とAMPA受容体拮抗薬の有効性について以下の知見を得た。

1. YM872のAMPA受容体拮抗作用に関する検討

YM872はAMPA受容体に対して高い親和性を示したが、N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 受容体を含む他のグルタミン酸受容体や各種抑制性神経伝達物質受容体に対しては殆ど親和性を示さなかった。また、ラット海馬培養細胞におけるAMPA誘発神経細胞内Ca²⁺流入を測定したところYM872はこれを用量依存的に抑制し、AMPA受容体拮抗作用を示した。さらにグルタミン酸神経系の過剰興奮がその発現に関与しているDBA/2マウスにおける聴源性けいれんに対して、YM872は用量依存的に抑制作用を示した。また、ラットおよびネコを用いた脳波学的検討において、YM872は大脳皮質および海馬での自発脳波を鎮静する作用を有した。

2. 脳虚血での大脳皮質の急性神経細胞障害におけるAMPA受容体の関与とYM872の保護作用

脳梗塞の病態モデルとされる中大脳動脈 (MCA) 閉塞モデルをラットおよびネコを用いて作製し、YM872の神経細胞保護作用を検討した。ラットMCA閉塞モデルにおいて、閉塞直後より4時間静脈内持続投与を行い、閉塞24時間後に組織学的検討を行ったところ、YM872は大脳皮質の梗塞巣体積を用量依存的に縮小させ、神経細胞保護作用を示した。また、この保護作用は閉塞2時間後から薬剤投与を開始しても保持されていた。さらに同モデルにおいて、閉塞1週間後における神経症状に対しても改善作用を示した。閉塞直後から4時間持続投与を行って得られたこれらYM872の神経細胞保護作用は、YM872の投与時間を延長 (24時間持続投与) しても、また、1日4時間で頻回投与 (5日間連続投与) を行っても更なる薬効は得られなかった。また、非侵襲的画像診断法である磁気共鳴イメージング (MRI) を用いて同様な検討を行ったところ、細胞障害発生過程の超初期相 (細胞毒性脳浮腫) を検出可能な拡散強調撮像法により、YM872が、閉塞後4時間の時点で既に梗塞巣体積縮小作用を示すことが観察された。更に、ネコを用いたMCA閉塞モデルにおいても、YM872を閉塞直後より6時間静脈内持続投与を行い、閉塞6時間後に組織学的検討を行ったところ、用量依存的な梗塞巣体積縮小作用が認められた。これらの結果から、脳虚血病態での大脳皮質神経細胞障害の進展の主に初期相にAMPA受容体が重要な役割を果たしていることが示唆された。

3. 脳虚血での黒質の二次的神経細胞変性におけるAMPA受容体の関与とYM872の保護作用

MCA閉塞モデルにおいて、虚血に直接曝されない遠隔部位に位置する黒質（SNR）は二次的神経細胞変性（萎縮）を起こすことが報告されている。この現象は、臨床においても大脳基底核梗塞に伴って認められ、亜急性期から慢性期の病態として知られている。その変性機序として、これまで、線条体の虚血により線条体由来のGABA神経系の抑制性の入力にSNRで低下し、脱抑制によりSNR神経細胞が過剰興奮し神経細胞死が発生するとした、脱抑制機序（disinhibition mechanism）が報告されているものの、十分に解明されるには至っていない。そこで、著者は、SNRが視床下核（STh）からグルタミン酸神経系の興奮性の入力を受けていることに着目して、この二次的神経細胞変性には、グルタミン酸神経系の相対的な活性上昇が関与しており、虚血急性期と同様に、グルタミン酸仮説が適応可能であると考え、このグルタミン酸神経系の興奮性の入力をAMPA受容体拮抗薬で遮断することにより二次変性を抑制することを計画し、YM872のラットMCA閉塞モデルにおけるSNR二次変性に対する保護作用を検討した。その結果、MCA閉塞2週間後に認められたSNRの萎縮に対してYM872は有意な保護作用を示した。また神経症状に対しても改善作用が認められた。これらの結果から、SNR二次変性の発生におけるAMPA受容体の関与が示唆されるとともに、本現象に対するYM872の有効性が示された。

以上、著者は、大脳皮質での虚血性神経細胞障害の進展の初期相にAMPA受容体が重要な役割をはたしていること、さらに虚血遠隔部位に位置する黒質での二次的神経細胞変性におけるAMPA受容体の関与およびAMPA受容体拮抗薬の保護作用を見出した。これらの結果は脳虚血障害におけるAMPA受容体の関与とAMPA受容体拮抗薬の作用に関する理解を深め、脳虚血障害治療薬の創製に有効な知見を得たものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

グルタミン酸受容体サブタイプのひとつである2-amino-3-(3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-yl) propionic acid (AMPA) 受容体は脳虚血時の神経細胞障害発現に深く関与していることが示唆されている。しかし、2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo [f]quinoxaline (NBQX) に代表される第一世代のAMPA受容体拮抗薬は、水溶性が非常に低いため、腎毒性を誘発することから、その使用が制限されており、現在までのところ、脳虚血病態でのAMPA受容体の役割が十分に解明されるには至っていない。このような背景のもと、本論文は、NBQXの水溶性を改善する目的で創製されたキノキサリン誘導体 [2,3-dioxo-7-(1H-imidazol-1-yl)-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydroquinoxalin-1-yl] acetic acid monohydrate (YM872) について、薬理学的性質および脳虚血モデル動物における神経細胞保護作用を検討し、脳虚血障害におけるAMPA受容体の関与とAMPA受容体拮抗薬の有効性について評価したものである。

著者は、まず、ラジオレセプターアッセイにより、YM872はAMPA受容体に対して高い親和性と選択性を示すことを見いだした。また、培養細胞でのAMPA誘発神経細胞内Ca²⁺流入、グルタミン酸神経系の過剰興奮が関与するDBA/2マウスにおける聴源性けいれんに対する効果、ラットおよびネコでの大脳皮質および海馬での自発脳波の鎮静作用などを測定し、YM872がAMPA受容体拮抗作用を有することを明らかにした。

次いで、著者は、ラットおよびネコを用いて、脳梗塞の病態モデルとされる中大脳動脈閉塞モデルを作製し、YM872の神経細胞保護作用を検討した。その結果、閉塞直後から2時間後までの間に静脈内持続投与を開始した場合、大脳皮質の梗塞巣体積を用量依存的に縮小させるとともに、神経症状に対しても改善作用を示した。これらの結果から、脳虚血により起こる大脳皮質神経細胞障害の進展の主に初期相にAMPA受容体が重要な役割を果たしていることを明らかとした。さらに、脳虚血において、虚血状態に直接曝されない黒質で生じる二次的神経細胞変性（萎縮）に対しても、著者は、視床下核からの黒質へのグルタミン酸神経系の相対的な活性上昇が関与していると考え、二次変性に対するYM872の抑制効果を検討した。その結果、この障害に対してもYM872は有意な保護作用を示し、また神経症状も改善することを認めた。これらの結果から、虚血病態での黒質の二次変性の発生におけるAMPA受容体の関与が示唆されるとともに、本障害に対するYM872の有効性が示された。

以上、本論文は、脳虚血障害に対するAMPA受容体拮抗薬の有効性および本障害の発生におけるAMPA受容体の関与に関して有用な成果を収めたものであり、脳虚血障害治療薬の創製に新しい方向性を示したものである。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成11年2月15日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。