

氏 名	ときめともお
氏 名	女 知 生
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1861 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 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Neuroprotective effect of FK506, an immunosuppressant, on transient global ischemia in gerbil. (砂ネズミ一過性全脳虚血に対する免疫抑制剤 FK506 の神経保護効果に関する研究)

	(主 査)			
論文調査委員	教 授 川 口 三 郎	教 授 三 好 功 峰	教 授 菊 池 晴 彦	

論 文 内 容 の 要 旨

(目的)

FK506 は最近開発された免疫抑制剤で、FK binding protein (FKBP12) と複合体を形成し、カルシウム依存性の脱リン酸化酵素 calcineurin を抑制することにより T cell の活性化を抑え免疫抑制作用を示す。FK506 の基質である FKBP12 と calcineurin は脳内、特に海馬に強く発現していることが報告されている。calcineurin の中枢神経系での基質としては神経型一酸化窒素 (NO) 合成酵素 (nNOS) があり、FK506 は最終的に nNOS を阻害することにより in vitro では glutamate neurotoxicity を in vivo では局所脳虚血に対して保護的効果があることが報告されている。砂ネズミ一過性全脳虚血における、海馬遅発性神経細胞死はよく知られた病態であるが、その正確な機構は未だ不明の点が多い。局所脳虚血においては NO の関与は nNOS 阻害剤の投与実験にて明らかになってきているが、海馬遅発性神経細胞死においては NO の関与は未だ明らかになっていない。そこで海馬遅発性神経細胞死における NO の関与を明らかにするために選択的 nNOS 阻害剤 7 nitroindazole (7NI) 及び FK506 の神経保護効果を調べた。

(実験方法)

体重60-70 g の雄砂ネズミを5分間一過性に両側総頸動脈を遮断し全脳虚血を作成。虚血開始1分後に7NI (25 mg/kg) あるいはFK506 (0.1-1.0 kg/kg) を腹腔内に投与した。また、一部の動物は24時間後、48時間後にも7NI, FK506 の投与を行った。7日後に海馬 CA1 領域の神経細胞を数えることにより効果を判定した。

(結果)

FK506 は用量依存性に神経保護効果を認めた。1 mg/kg の投与にて約35%の神経の残存を認めた。24時間後、48時間後の投与はそれ以上の効果をもたらさなかった。7NI 投与群では神経保護効果は殆ど認められなかった。

(考察)

海馬遅発性神経細胞死において非選択的 NOS 阻害剤の投与は一定した結果が得られていない。nNOS 特異的阻害剤である 7NI は殆ど神経保護効果が認められなかったことにより海馬遅発性神経細胞死に NO が関与している可能性は低い。このことは海馬神経細胞には NOS 陽性神経細胞が少ないという報告からも示唆される。FK506 の保護効果は FKBP12 が海馬神経細胞に豊富に存在することより、FKBP12, calcineurin を介する可能性が示唆されるが、これらの target には nNOS 以外の存在が示唆された。また、最近、nNOS knock out mice にても NO が関与していると言われている長期増強現象が認められるという報告や、海馬 CAI 領域で内皮型 NOS の免疫染色性が認められるという報告もあり、FK506 の保護効果はこれらを介する可能性も存在すると思われる。

論文審査の結果の要旨

(目的)

FK506 は最近開発された免疫抑制剤で、FK binding protein (FKBP12) と複合体を形成しカルシウム依存性の脱リン酸化酵素 calcineurin を抑制することにより T cell の活性化を抑え免疫抑制作用を示す。FK506 の基質である FKBP12 と calcineurin は脳内、特に海馬に強く発現していることが報告されている。calcineurin の中枢神経系での基質としては神経型一酸化窒素 (NO) 合成酵素 (nNOS) があり、FK506 は最終的に nNOS を阻害することにより in vitro では glutamate neurotoxicity を in vivo では局所脳虚血に対して保護の効果があることが報告されている。砂ネズミ一過性全脳虚血における、海馬遅発性神経細胞死はよく知られた病態であるが、その正確な機構は未だ不明の点が多い。局所脳虚血においては NO の関与は nNOS 阻害剤の投与実験にて明らかになってきているが、海馬遅発性神経細胞死においては NO の関与は未だ明らかになっていない。そこで海馬遅発性神経細胞死における NO の関与を明らかにするために選択的 nNOS 阻害剤 7nitroindazole (7NI) 及び FK506 の神経保護効果を調べた。

(実験方法)

体重60-70 g の雄砂ネズミを5分間一過性に両側総頸動脈を遮断し全脳虚血を作成。虚血開始1分後に7NI (25 mg/kg) あるいはFK506 (0.1-1.0 mg/kg) を腹腔内に投与した。また、一部の動物は24時間後、48時間後にも7NI, FK506 の投与を行った。7日後に海馬 CAI 領域の神経細胞を数えることにより効果を判定した。

(結果)

FK506 は用量依存性に神経保護結果を認めた。1 mg/kg の投与にて約35%の神経の残存を認めた。24時間後、48時間後の投与はそれ以上の効果をもたらさなかった。7NI 投与群では神経保護効果は殆ど認められなかった。

(考察)

海馬遅発性神経細胞死において非選択的 NOS 阻害剤の投与は一定した結果が得られていない。nNOS 特異的阻害剤である 7NI は殆ど神経保護効果が認められなかったことにより海馬遅発性神経細胞死に NO が関与している可能性は低い。このことは海馬神経細胞には NOS 陽性神経細胞が少ないという報告

からも示唆される。FK506 の保護効果は FKBP12 が海馬神経細胞に豊富に存在することにより、FKBP12, calcineurin を介する可能性が示唆されるが、これらの target には nNOS 以外の存在が示唆された。また、最近、nNOS knock out mice にても NO が関与していると言われている長期増強現象が認められるという報告や、海馬 CA1 領域で内皮型 NOS の免疫染色性が認められるという報告もあり、FK506 の保護効果はこれらを介する可能性も存在すると思われる。

以上の研究は海馬遅発性神経細胞死の解明に貢献し、脳梗塞の治療に寄与するところが多い。

従って、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 9 年 1 月 27 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。