

氏 名 おか だ み き こ
岡 田 美 貴 子
学位(専攻分野) 博 士 (農 学)
学 位 記 番 号 論 農 博 第 2202 号
学位授与の日付 平 成 10 年 9 月 24 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 Blockade of the N-methyl-D-aspartate-type glutamate receptor in the animal:
Target for neuroprotection in head trauma and brain ischemia
(動物における N-メチル-D-アスパラギン酸型グルタミン酸受容体遮断:
頭部外傷および脳虚血における神経保護のターゲット)
(主査)
論 文 調 査 委 員 教 授 宮 本 元 教 授 佐々木義之 教 授 今 井 裕

論 文 内 容 の 要 旨

興奮性神経アミノ酸であるグルタミン酸は、頭部外傷および脳虚血の急性期にその脳における細胞外濃度が著しく上昇することが報告されている。グルタミン酸受容体サブタイプのうち、N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 型受容体は虚血に対して脆弱であるとされる脳領域に特異的に多く存在することから、神経細胞死への関与が指摘されている。これらの点から、本受容体は神経細胞障害に対する薬剤のターゲットとなる可能性がある。本研究では、頭部外傷および脳虚血時の神経細胞障害に対するNMDA型受容体の関与、および神経細胞保護を目指した薬剤のターゲットとしての可能性を検討することを目的とした。その主な内容は以下のとおりである。

まず、マウス神経細胞培養系で細胞形態を観察するとともに、細胞より放出される乳酸デヒドロゲナーゼ量を測定し、過剰量のグルタミン酸が神経細胞を死に至らしめることを確認した。また、グルタミン酸結合部位に作用するNMDA型受容体競合的拮抗薬であるCGS19755を用いて、NMDA型受容体を遮断することにより、グルタミン酸による神経細胞毒性を阻止しうることを明らかにした。NMDA型受容体のイオンチャンネル部位に作用する非競合的拮抗薬MK-801についても、同様の神経細胞保護作用があることを示し、あわせてNMDA型受容体のグルタミン酸神経細胞毒性への関与を示した。

次にマウス頭部に人為的に外傷を与えその後の生体反応および死亡率を検討した。重度の衝撃では高い死亡率を認めたが、CGS19755および同じくNMDA型受容体競合的拮抗薬であるCGP40116の衝撃前の投与により、動物の生存率が上昇することを明らかにした。また、衝撃後に見られた痙攣発作に対してCGS19755およびCGP40116の抑制作用を示し、てんかんへのNMDA型受容体の関与の可能性を示した。

また、ネコ中大脳動脈の閉塞による部分虚血モデルにおいて、虚血により生じた梗塞巣の面積を画像解析装置により計測した。まず虚血対照群では、虚血操作を施した側の半球に広範囲な梗塞巣が発生することを示した。さらにCGS19755およびCGP40116を虚血操作前あるいは操作後に投与して検討を行い、NMDA型受容体の遮断により梗塞面積が減少することを明らかにした。

さらに、スナネズミ2血管閉塞一過性全脳虚血モデルおよびラット4血管閉塞一過性全脳虚血モデルにおいて、海馬CA1領域の神経細胞生存数を検討し、虚血により神経細胞生存数が著しく減少することを示した。CGS19755およびCGP40116の虚血前あるいは虚血後投与によりNMDA型受容体を遮断すると、生存神経細胞数が有意に増加することを見いだした。スナネズミにおいては虚血操作により運動量の上昇を認めたが、CGS19755およびCGP40116投与群では正常動物レベルに改善されることを明らかにした。また、虚血ラットの学習行動を検討し、虚血操作により虚血後数日以内にラットの学習が阻害されること、CGS19755およびCGP40116により虚血操作直後にNMDA型受容体を遮断すると、この学習行動の低下を改善できることを明らかにした。脳各領域のATP濃度を測定し、虚血群ではその濃度が低下するが、その後数日で正常レベルへと回復することを明らかにした。脳内ATP濃度の変化が海馬生存神経細胞数の有意な低下を認める以前に見ら

れ、時期的に学習行動の低下と一致することから、学習行動に脳内エネルギー代謝の変化が強く関係することを見いだした。さらに、CGS19755およびCGP40116投与群では脳各領域のATP濃度は正常レベルへと改善されることを示し、NMDA型受容体を遮断すると脳内エネルギー代謝が改善されることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

頭部外傷および脳虚血は非常に重篤な病態であり、現代社会のなかで大きな問題となっているが、グルタミン酸受容体拮抗薬はこれらに対する新規薬剤として期待される。本論文は、グルタミン酸受容体サブタイプのひとつであるN-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）型受容体の遮断による効果を、神経細胞培養系および病態動物において検討した研究成果をとりまとめたものである。

本論文の評価すべき主要な点は以下のとおりである。

1. In vitroにおいてグルタミン酸が神経細胞毒性を示すこと、その際、神経細胞は細胞間ネットワーク様構造を失うこと、およびNMDA型受容体遮断が神経細胞保護作用を示すことを明らかにした。

2. マウスにおいて頭部外傷の病態を再現し、NMDA型受容体遮断により死亡率が低下することを明らかにした。また、NMDA型受容体拮抗薬がてんかんの痙攣発作抑制にも有効である可能性を示した。

3. 脳部分虚血により脳梗塞モデルネコを作製し、NMDA型受容体遮断により梗塞面積が減少することを明らかにした。その際NMDA型受容体拮抗薬の投与時期についても検討し、虚血前投与のみならず虚血後投与でも効果があることを見いだした。

4. スナネズミおよびラットにおいて、脳に至る血管を一時的に閉鎖することにより一過性全脳虚血モデルを作製し、虚血に特に弱いとされる海馬CA1領域の生存神経細胞数を計測し、NMDA型受容体拮抗薬が神経細胞保護に有効であることを明らかにした。さらに、グルタミン酸結合部位に作用するNMDA型受容体拮抗薬であるCGS19755およびCGP40116は、ラットの学習行動を改善すること、そのメカニズムは脳内エネルギー代謝の改善によると推察できることを見いだした。

以上のように、本論文は、動物における脳障害に対するNMDA型受容体の関与と、その遮断による効果について重要な知見を得ており、動物生理学、細胞生物学および神経細胞保護剤の開発研究に寄与するところが大きい。

よって、本論文は、博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成10年7月23日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。