

氏名(本籍)	都築 智子(埼玉県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第326号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位論文題目	The PDGF B-chain is involved in the ontogenic susceptibility of the developing rat brain to NMDA toxicity (血小板由来増殖因子による発達脳の興奮性の調節とNMDAによる脳障害の抑制)
審査委員	主査 教授 工藤 基 副査 教授 陣内 皓之祐 副査 教授 大川 匡子

論文内容要旨

*整理番号	329	氏 <small>(ふりがな)</small> 名	フケ 都 築 智 子
学位論文題目	The PDGF B-chain is involved in the ontogenic susceptibility of the developing rat brain to NMDA toxicity 血小板由来増殖因子による発達脳の興奮性の調節と NMDA による脳障害の抑制		
<p><目的></p> <p>新生児期の仮死などによる低酸素性虚血性脳障害 (HIE) は、中枢神経の永続的な後障害をもたらすことが多く、その詳細な病態生理の解明が必要である。また、脳の低酸素性虚血性侵襲 (HI) に対する脆弱性はその発達段階によって異なり、ラットでは生後7日目の脳が生後14日目のものより脆弱であることが知られている。本研究ではこの差が何に起因するのかを検討することにより、HIE の病態生理を考察した。HIE の基本的な病態の一つとして、NMDA 受容体 (NMDAR) を介した神経細胞の過興奮があり、HI に対する年齢依存性の脆弱性が NMDAR の感受性の差に起因する可能性がある。血小板由来増殖因子 B 鎖 (PDGF-B) は種々の生物活性を有することが知られているが、近年 NMDAR の抑制因子としての役割が注目されている。一方、われわれのこれまでの研究で、生後7日目ラットのモデルにおいて PDGF-B 鎖の発現が亢進していることが示された。したがって今回われわれは、NMDA 投与により誘導する新生仔ラットの HIE モデルを用いて、幼若脳で観察される NMDA の年齢依存性の神経細胞毒性を PDGF-B 鎖が制御している、という仮説を検討した。</p> <p><方法></p> <p>生後5日目の仔ラットに脳定位装置を用いて左の線条体に金属カニューレを留置し、生後7日目に NMDA を投与、生後9日目に灌流固定して脳を摘出し、200μmごとに20μmの凍結冠状断切片を作成し Nissle 染色を行った。また、同じく生後7日目のラットに対し NMDA 投与の前後に PDGF-B 蛋白を投与し、同様の冠状断切片を作成した。一方、生後12日目のラットにもカニューレを留置し、生後14日目に NMDA を投与、生後16日目に灌流固定して同様に冠状断切片を作成した。また、同じく生後14日目のラットに対し NMDA 投与の10時間前に PDGF-B antisense oligonucleotides を投与し、同様に冠状断切片を作成した。なお今回の実験では、NMDA 投与により生じる障害巣を200μmの高さの円柱を積み上げたものと考え、各々の冠状断切片において障害面積を測定して体積を算出し、その平均値を統計学的に比較検討した。次に antisense oligos の PDGF-B 鎖発現に対する影響を調べるために、生後14日目に antisense oligos を脳内投与し、24時間後に脳を摘出して PDGF-B 鎖の発現に関して免疫組織学的に検討した。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

<結果>

日齢7ラットでNMDAのみを投与した群では、投与部位を中心としたほぼ円形の細胞壊死巣を認め、その範囲は線条体、視床、個体によっては大脳皮質の一部にまで及んだが、PDGF-B蛋白を前後に投与したラット群では、NMDA投与による障害巣は著しく縮小し、その範囲は線条体内のNMDA投与部位の周辺のみにとどまり、統計学的にも両者の間には有意差を認めた($p < 0.005$)。一方、日齢14ラットでNMDAのみを投与した群では、線条体内のNMDA投与部位の周辺でのみ壊死巣を認めたが、PDGF-B antisense oligosを前投与したラット群では、NMDAの投与による円形の壊死巣は明らかに拡大し、その範囲は線条体、視床に及び、統計学的にも両者の間には有意差を認めた($p < 0.001$)。また、PDGF-B鎖の免疫染色において、日齢14にantisense oligosを投与したラット脳では、その24時間後のPDGF-B鎖の発現がrandom oligosを投与した脳に比べて、投与部位を中心に著しく低下していた。

<考察>

新生児期におけるHIEの要因の一つに、NMDARの過刺激による興奮毒性があげられる。しかし発達脳のHIに対する脆弱性とNMDARの発現レベルとの間に正の相関はみられない。一方PDGF-B鎖は、NMDA依存性の後シナプス電流を抑制することにより神経保護作用を有することが報告されている。今回の実験では、PDGF-B鎖発現の低い日齢7ラット脳において、NMDARの数が少ないにも関わらずNMDA投与により高度の組織障害が生じたが、PDGF-B蛋白の前、後投与によってNMDA投与後の障害は著しく抑制された。一方、PDGF-B鎖の発現の高い日齢14ラット脳では、NMDARの発現は高いもののNMDA投与後の障害は極めて少なかった。しかし同じ日齢14のラット脳でPDGF-B鎖の発現をantisense oligosにより抑制すると、NMDA投与により高度の障害が生じた。これらの事実から、PDGF-B鎖は、発達脳におけるNMDAR由来の興奮毒性における重要な調節因子の可能性があり、またNMDARとPDGF-B鎖の発現のバランスが発達期における興奮毒性にも関与する可能性が考えられた。

<結論>

幼若ラット脳においてNMDAに対する脆弱性とPDGF-B鎖の発現レベルに負の相関性があることから、発達期において発現する脳PDGF-B鎖は、NMDARの重要な調節因子として新生児脳のHIに対する脆弱性にも深く関与することが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	329	氏名	都築 智子
<p>(学位論文審査の結果の要旨)</p> <p>本研究は、低酸素/虚血侵襲に対する脳の脆弱性と血小板由来増殖因子 (PDGF-B 鎖) の発現の関係を NMDA 投与による脳障害モデルラットを用い調べたものである。</p> <p>PDGF-B 鎖発現の低い日齢 7 ラット脳において、NMDAR の数が少ないにも関わらず NMDA 投与により高度の組織障害が生じたが、PDGF-B 鎖の投与によって NMDA 投与後の障害は著しく抑制された。一方、PDGF-B 鎖発現の高い日齢 14 ラット脳では、NMDAR の発現は高いものの NMDA 投与後の障害は極めて少なかった。しかし同じ日齢 14 のラット脳で PDGF-B 鎖の発現をアンチセンスにより抑制すると、NMDA 投与により高度の障害が生じた。これらの結果から、PDGF-B 鎖は発達脳における NMDAR 由来の興奮毒性における重要な調節因子であり、また NMDAR と PDGF-B 鎖の発現のバランスが発達期における興奮毒性にも関与する可能性が考えられた。</p> <p>本研究は、発達脳における PDGF-B 鎖の NMDAR の調節因子としての役割を報告したものであり、博士 (医学) 授与に値するものと認める。</p> <p style="text-align: right;">(平成 17 年 2 月 2 日)</p>			