

学 位 論 文 要 旨

氏名 櫻井 優

題 目 : Pathological study on the possible pathogenesis of seizure-induced neuronal death
in the epileptic brain
(てんかん発作により脳に生じる神経細胞死の病理発生に関する病理学的研究)

論文要旨 :

てんかんはヒトおよび動物において有病率の非常に高い(約 1%)神経疾患の一つである。てんかんの主徴は、脳の神経細胞の異常な興奮による繰り返す発作である。その治療には、主に抗てんかん薬が対症療法(発作の抑制)のために用いられる。しかし、およそ 30%の患者は抗てんかん薬では発作が十分に抑制されない難治性てんかん患者である。難治性てんかん患者には脳機能障害(記憶障害、言語障害、うつ発症、嗅覚障害など)が合併症として生じることが報告されている。てんかん発作は脳に神経細胞死を生じさせることが知られており、これが脳機能障害に関連すると考えられている。しかし、発作により脳に生じる神経細胞死の病理発生は未だ明らかとなっておらず、有効な予防および治療法は確立されていない。

第 1 章では、鳥取大学獣医病理学研究室で維持されているてんかん家系シェットランド・シープドッグの脳を、組織学的および免疫組織学的に解析した。本家系犬の脳には、発作により生じる神経細胞死が特定の部位(帯状回および脳溝の周囲)に限局し、これにアストロサイトの有する Glutamate transporter 1 (GLT-1) の発現減少が関連することが過去の研究により示唆されている。この神経細胞死の分布に一致して、血管の増数、血管内皮細胞の増生および Vascular endothelial growth factor (VEGF) 発現細胞(神経細胞ならびにグリア細胞)が認められた。同部位には Iba-1 陽性ミクログリアの活性化(増数ならびに形態の変化)およびミクログリアの炎症性サイトカイン (Tumor necrosis factor alpha ならびに Interleukin 6) の発現が認められた。また、一部では病変部周辺の神経細胞死が認められない領域において、これらの所見が認められた。以上の結果は、てんかん家系犬の脳に発作により生じる神経細胞死に血管新生およびミクログリアの活性化が関連することを示唆している。

第 2 章では、カイニン酸投与てんかんモデルラットを作製し、組織学的および免疫組織学的にその脳を解析した。特に視床正中領域の神経核(背内側核および結合核)に注目し、発作誘発から経時的に解析を行った。その結果、発作誘発から 7, 14, 28 日後の背内側核および結合核に、発作により生じる神経細胞死が認められた。免疫組織学的に、同部位では Glutamate transporter 1 (GLT-1) 陽性像の減弱、グルタミン酸陽性像の増強、および Iba-1 陽性ミクログリアグリア増数ならびに形態の変化(細胞質の腫大、突起の伸長など)

(別紙様式第 3 号)

が認められた。蛍光標識二重免疫染色により、増数したミクログリアは炎症性サイトカインである Interleukin 1 beta および inducible nitric oxide synthase を発現していた。また、同部位のアストロサイト (Glial fibrillary acidic protein 陽性) は GLT-1 発現が消失していた。また、これらの所見は、神経細胞死が未だ認められない背内側核および結合核 (発作誘発から 7 日後) に軽度に認められた。以上の結果は、カイニン酸投与てんかんモデルラットの視床正中領域の神経核に発作により生じる神経細胞死に、アストロサイトの GLT-1 発現減少によるグルタミン酸興奮毒性が関与することを示唆している。また、GLT-1 発現減少にミクログリアの活性化が関連する可能性がある。

すなわち、てんかん家系犬およびてんかんモデルラットの脳において、発作により生じる神経細胞死には様々な病理学的変化 (GLT-1 発現減少、ミクログリアの活性化および血管新生) が伴い、特に GLT-1 発現減少およびミクログリアの活性化が神経細胞死の原因と成り得ることが示唆された。

今回得られたこれらの所見は、てんかん発作が脳に与える影響に対する理解を深め、てんかんの治療法開発に有益な情報となり得る。

(和文 2,000 字又は英文 800 語程度)

学位論文審査の結果の要旨

| | |
|---|---|
| 氏名 | 櫻井 優 |
| 審査委員 | 主査：鳥取大学 教授 森田剛仁 |
| | 副査：山口大学 教授 森本将弘 |
| | 副査：鳥取大学 教授 竹内 崇 |
| | 副査：鳥取大学 教授 今川智敬 |
| | 副査：鳥取大学 准教授 高橋賢次 |
| 題目 | 英文 Pathological study on the possible pathogenesis of seizure-induced neuronal death in the epileptic brain. 和文 てんかん発作により脳に生じる神経細胞死の病理発生に関する病理学的研究 |
| 審査結果の要旨： てんかんはヒトおよび動物において有病率の非常に高い（100 人に 1 人）神経疾患の一つである。てんかんの主な症状は、脳の神経細胞の異常な興奮による繰り返す発作症状である。その治療には、主に抗てんかん薬が対症療法（発作の抑制）のために用いられる。しかしながら、およそ 30%の患者は抗てんかん薬で発作が十分に抑制されない難治性てんかん患者である。難治性てんかん患者には脳機能障害（記憶障害、言語障害、鬱症状、嗅覚障害など）が合併症として生じることが報告されている。てんかん発作は脳に神経細胞死を生じさせることが知られており、これが脳機能障害に関連すると考えられている。しかし、発作により脳に生じる神経細胞死の病理発生は未だ不明であり、有効な予防および治療法は確立されていない。 第 1 章では、鳥取大学獣医病理学研究室で維持されているてんかん家系シェットランド・シープドッグの脳について、組織学および免疫組織学的に解析した。本家系犬の脳には、発作により生じる神経細胞死が特定の部位（帯状回および脳溝の周囲）に局限し、これにアストロサイトの有する Glutamate transporter 1 (GLT-1) の発現減少が関連することが過去の研究により示唆されている。本研究では、この神経細胞死の分布に一致して、血管の増数、血管内皮細胞の増生および Vascular endothelial growth factor (VEGF) 発現細胞（神経細胞ならびにグリア細胞）が明らかとなった。同部位には Iba-1 陽性ミクログリアの活性化（増数ならびに形態の変化）およびミクログリアの炎症性サイトカイン（Tumor necrosis factor alpha ならびに Interleukin 6）の発現が認められた。また、一部では病変部周辺の神経細胞死が認められない領域において、これらの所見が認められた。 | |

以上の結果により、てんかん家系犬の脳に発作により生じる神経細胞死に血管新生およびミクログリアの活性化が関連することが示唆された。

第 2 章では、カイニン酸投与てんかんモデルラットを作製し、組織学的および免疫組織学的にその脳を解析した。従来より神経細胞壊死が生じるとされている視床正中領域の神経核（背内側核および結合核）に注目し、発作誘発から経時的に解析を行った。その結果、発作誘発から 7, 14, 28 日後の背内側核および結合核に、発作により生じる神経細胞死が認められた。免疫組織学的に、同部位では Glutamate transporter 1 (GLT-1) 陽性像の減弱、グルタミン酸陽性像の増強、および Iba-1 陽性ミクログリアの増数ならびにそれらの形態の変化（細胞質の腫大、突起の伸長など）が認められた。蛍光標識二重免疫染色により、増数したミクログリアには炎症性サイトカインである Interleukin 1 beta および inducible nitric oxide synthase (iNOS) の発現が認められた。また、同部位のアストロサイト (Glial fibrillary acidic protein (GFAP) 陽性) には GLT-1 の発現の消失が認められた。また、これらの所見は、神経細胞死が生じていない背内側核および結合核（発作誘発から 7 日後）に軽度に認められた。以上の結果により、カイニン酸投与てんかんモデルラットの視床正中領域の神経核に発作により生じる神経細胞死に、アストロサイトの GLT-1 発現の減少によるグルタミン酸興奮毒性が関与していることが示唆された。また、GLT-1 発現減少にミクログリアの活性化が関連する可能性がある。

本研究により、てんかん家系犬およびてんかんモデルラットの脳において、発作により生じる神経細胞死には様々な病理学的変化（GLT-1 発現減少、ミクログリアの活性化および血管新生）が伴い、特に GLT-1 発現減少およびミクログリアの活性化が神経細胞死の原因と成り得ることが示唆された。今回得られたこれらの所見は、てんかん発作が脳に与える影響に対する理解を深め、てんかんの治療法開発に有益な情報となり得る。

以上により、本論文は博士（獣医学）の学位論文に妥当なものであると判断された。