

学位論文審査結果の要旨

氏名	伊藤 正範
審査委員	主査 上野 修一 副査 國枝 武治 副査 尾形 直則 副査 永井 将弘 副査 池宗 啓蔵

論文名

HMGB1 は幼弱ラット温熱誘発けいれん及び温熱誘発けいれん重積後の後天性てんかん発症を促進させる

審査結果の要旨

【背景】

熱性けいれんは、小児期に多いけいれん性疾患で、本邦では約 1 割弱の小児が罹患する。熱性けいれんは一般的には脳障害をきたさない良性疾患とされているが、海馬硬化症を伴う内側側頭葉てんかんでは、幼少期に遷延性熱性けいれんの既往を持つものが多いという研究もあり注目されている。しかし、熱性けいれんの発生機序や、遷延性熱性けいれんと後天性てんかんの関連性は未だ完全には解明されていない。

中枢神経系の炎症は、けいれん性疾患の重要な病因のひとつであり、現在 Interleukin-1 β などの炎症性サイトカインがその病態に関わるとの知見が報告されている。そこで本研究では熱性けいれんの動物モデル「幼弱ラット温熱誘発けいれんモデル」を用い、発作や外傷時などに神経細胞やグリアから遊離される代表的ヌクレオカインである High mobility group box 1 (HMGB1) が温熱誘発けいれん及び温熱誘発けいれん重積後のてんかん発症に及ぼす影響を検討した。

【方法】

1 : HMGB1 が温熱誘発けいれんに与える影響

日齢 12-13 の Lewis 雄性ラットを、麻酔鎮静下に脳波電極を装着し、術後 2 日目にラットを 4

群に分けた（大量 HMGB1 群：100 μ g、中等量群：10 μ g、少量群：1 μ g、対照群：生理食塩水）。薬物点鼻投与 1 時間後に温熱誘発けいれんを起こし、けいれん閾値（発作波出現時の直腸温）とけいれん持続時間を測定した。発作後 14 日目（日齢 28）に脳を取り出し、核染色、GFAP 及び Iba1 染色し、海馬領域の病理学的評価を行った。

2：HMGB1 が温熱誘発けいれん重積後の成熟期てんかん発症に与える影響

日齢 10-11 の幼弱ラットを 4 群に分ける（HMGB1+pHS 群、HMGB1 群、pHS 群、対照群）。HMGB1+pHS 群と pHS 群には、温熱負荷を 30 分間行い温熱誘発けいれん重積（pHS: prolonged hyperthermia-induced seizures）を発生させた。HMGB1+pHS 群と HMGB1 群には、24 時間後に HMGB1 (10 μ g) を、他群には生理食塩水を点鼻投与した。日齢 85 でローターロッド及びパッシブアボイダンス試験による知能・運動機能評価を行い、成熟期のてんかん発症評価は、日齢 90 と 120 に動物用ビデオ脳波同時記録システムを用いて行った。病理学的評価は、日齢 150 に脳を取り出し海馬細胞障害やグリオーシスについて評価した。

【結果】

1：HMGB1 は温熱誘発けいれんの発現を促進させた

温熱負荷後、100 μ gHMGB1 投与群 ($p=0.002$) と 10 μ gHMGB1 投与群 ($p=0.048$) で有意にけいれん閾値が低下し、容量依存的にけいれん閾値を下げる事が確認された。一方、HMGB1 はけいれん持続時間には影響しなかった。日齢 28 の病理学的検討では細胞障害やグリオーシスは認められなかった。

2：HMGB1 は温熱誘発けいれん重積後の成熟期てんかん発症を促進させた

HMGB1+pHS 群では他群に比して有意に後天性てんかんの発症率が高かった ($p<0.05$)。一方、ローターロッド及びパッシブアボイダンス試験の結果に 4 群間で差は認められなかった。HMGB1+pHS 群をてんかん発症群と非てんかん発症群の 2 群に分け、病理学的検討を行った結果、てんかん発症群は非てんかん発症群に比して CA1、CA3 領域や脳梁で有意なアストロサイトの増生が認められたが ($p<0.05$)、神経細胞やマイクログリアでは差は認められなかった。

【考察・結論】

HMGB1 は、NMDA 受容体経路に関係し、けいれん閾値を低下させていると考えられた。また、重積発作後に HMGB1 投与し成熟期てんかん発症させたモデルでは、アストロサイトの減少があり、結論として、HMGB1 は熱性けいれんの発症に関与する他、HMGB1 過剰産生が後天性てんかんの発症にも関与することが示唆された。

平成 29 年 1 月 23 日に開催された公開審査会では、申請者は英語で提出論文や関連領域について発表した。その後、審査委員より、1) 熱性けいれんとモデル動物の違いについて、2) 実験 1 でけいれん持続時間が変わらなかった理由、3) この研究結果をどのように薬物と結びつけるかについて、4) 他のケモカインとの関連について、5) アストロサイトとの関連について、6) グルタミン酸との関係について、7) 発作モデルとして今後の研究の方向性についてなど多くの質問が行われた。審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。