

(第 12 号様式)

学位論文の要約 (研究成果のまとめ)

氏 名 越 智 紳 一 郎

学位論文名 間歇型一酸化炭素中毒がラットのニコチン性コリン系システムに与える影響

学位論文の要約

一酸化炭素(carbon monoxide、以下 CO)は無色、無味、無臭、非刺激性でありながら、極めて毒性の強い気体であり、人体内で容易に吸収される。CO とヘモグロビンの結合は酸素に比べ 200 倍強いため、酸素化ヘモグロビンの解離曲線が左方移動し、末梢に酸素が供給できなくなる。その結果、組織が低酸素状態になり、興奮性アミノ酸の増加、グルタミン酸受容体活性化が起こり、最終的には神経障害を引き起こす急性 CO 中毒を発症する。急性 CO 中毒のうち、10 から 30%で遅延性神経細胞障害(間歇型 CO 中毒)が起こる。これは急性期の昏睡状態から、神経学的にも精神医学的にも無症状の時期が約 2 週間続いた後、突然健忘、失見当、計算力低下、寡動、情動不安定などの精神神経症状が発症する病態である。間歇型はこれらの神経精神症状から失外套症候群に至ったり、死亡することもある。しかし、間歇型の発症原因は免疫系の関与や脂質過酸化反応の関与など諸説あるが、いまだ詳細な原因は不明であり、予測因子などもわかっていない。治療方法においても高圧酸素療法などが提唱されているものの、その有効性の機序は不明であり、明確な手法も確立されていない。我々は間歇型 CO 中毒の機序を明らかにするために、間歇型 CO 中毒のモデル動物を作成し、その原因を研究した。我々は特に認知機能に関して、近年アルツハイマー病などで認知機能との関連が報告されているニコチン性アセチルコリン受容体に着目し、ニコチン性アセチルコリン受容体遺伝子(cholinergic receptor, nicotinic 以下 Chrn)の中で主要なサブユニットである chrna3、chrna4、chrna7、chrnb2 遺伝子の脳内分布の変化を、正常ラットと間歇型 CO 中毒モデルラットの mRNA 発現にてそれぞれ調べた。

モデル動物作成のため、雄性 Wistar ラット(6 週齢)を用い、CO に暴露した。

暴露前後に、行動実験としてステップスルー型受動回避学習試験による認知機能評価を行った。正常群と CO 暴露群にわけ、それぞれ 3 週間経時的に確認したところ、CO 暴露群では、有意に記憶を保持している時間が低下した。

3 週間後ラットの脳組織を安楽死後に摘出し、前頭葉、側頭葉、線条体、視床、海馬、中脳、橋、小脳、嗅脳の 9 か所に分けた。各組織、常法に基づき mRNA を抽出し、random hexamer を用いて逆転写反応を行い、cDNA を作成した。chrna3、chrna4、chrna7、chrnb2 遺伝子に特異的 Taqman

probe を用いて脳内 mRNA 分布を quantitative RT-PCR にて定量した。また、ラット脳の組織切片を作成し、海馬のヘマトキシリンエオジン染色を行った。

ヘマトキシリンエオジン染色の結果は、CO 暴露群において、海馬で CA1、CA3、歯状回の各領域で、核凝縮の増加及び細胞数が有意に減少していることがわかった。

mRNA の発現に関しては、GAPDH を内部標準として用い比較した結果、CO 暴露群の脳の海馬において、ニコチン性アセチルコリン受容体の $\alpha 3$ サブユニットの遺伝子である *chrna3* 遺伝子の有意な発現の低下を認めた。一方、CO 曝露群の小脳において、ニコチン性アセチルコリン受容体の $\alpha 7$ サブユニットの遺伝子である *chrna7* 遺伝子の有意な発現の上昇を認めた。 $\alpha 3$ サブユニットは脳内で認知機能と関連し、アルツハイマー型認知症において、アミロイド β タンパクによる神経毒性から神経保護作用をもつことなどが報告されている。また、自閉症の精神症状と、小脳の $\alpha 7$ サブユニットの上昇の関連が報告されている。これらのことから間歇型 CO 中毒の認知機能障害に海馬の広範な細胞傷害と、脳におけるニコチン性アセチルコリン受容体が関連することが考えられる。なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文にすでに公表済みである。

主論文 : Ochi S, Abe M, Li C, Mori Y, Ishimaru T, Yoshino Y, Yamazaki K, Mori T, Fukuhara R, Tanimukai S, Matsuda S, Yoshida K, Ueno S : The nicotinic cholinergic system is affected in rats with delayed carbon monoxide encephalopathy. *Neuroscience Letters*