

(第7号様式)

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	関谷 慶介
審査委員	主査 上野 修一
	副査 松田 正司
	副査 渡邊 英昭
	副査 竹葉 淳
	副査 西村 和久

### 論文名

一酸化炭素中毒後遅発性脳症はマクログリアの減少と神経栄養因子の分泌低下により起こる

### 審査結果の要旨

(はじめに)

一酸化炭素 (CO) 中毒は、急性期には高濃度で意識障害を起こし死に至る。しかし、急性期の中毒症状から回復しても、数日から数週後に遅発性脳症 (DE) と言われる神経障害を呈することがある。臨床的に DE では脱髄が認められ、近年、他の脱髄性疾患や神経変性疾患と同様に、脳内の免疫担当細胞であるマクログリア (MG) の活性化が原因の一端である可能性が報告された。しかし、その詳しいメカニズムは不明であり、低酸素脳症との違いも明らかでない。今回申請者は、DE の免疫学的、病態生理学的なメカニズムと、低酸素性脳症との違いの解明を試みた。

(方法)

8週齢の雄性Wistarラットを用い、ルームエアー暴露をコントロール群として、CO群 (1000ppmのCOを40分間吸入させた後に3000ppmのCOを最長で20分間吸入)、低酸素群 (O<sub>2</sub>濃度8%40分にO<sub>2</sub>濃度4%20分) の3群に振り分けた。低酸素群における酸素濃度は、CO群の動脈血液ガス分析から得られたO<sub>2</sub>Hbの値をもとに決定した。その後3週間に渡り、受動的回避実験で長期学習行動への影響を調べた。また、海馬組織を用い定量的リアルタイムPCR、Western Blotting、免疫沈降法、フローサイトメトリー、免疫組織化学等の手法を用い検討した。

(結果)

受動的回避実験では、暴露 7 日以降に CO 群においてのみ有意な変化が認められた。オリゴデンドロサイト (OL) マーカーの解析では、CO 群、低酸素群共に 3 日以降に MBP、GST $\pi$  等の mRNA およびタンパク質が減少しており、脱髄が示唆された。特に CO 群では 21 日後まで継続していた。また、CO 群では OL 前駆細胞 (OPCs) のマーカーである NG2 も低下していたことから、成熟ミエリンだけでなく前駆細胞も減少していることが示唆された。神経細胞マーカー mRNA 発現は、CO 群で有意に低下していた。MG との関連では、CO 吸入群のみ MG マーカー mRNA およびタンパク質が低下していた。さらにフローサイトメトリー分析では、MG の細胞数が CO 群でのみ減少していた。免疫組織化学では、CO 群では MG の突起はちぎれ、数も減少していた。一方、低酸素群では MG は活性化し、細胞膜上に NG2 の発現を認めた。CO 群での海馬神経細胞は、コントロール群、低酸素群よりも減少していた。海馬組織内 mRNA の発現では、IGFs、FGF-2、HGF などの神経栄養因子が CO 群においてのみ減少していた。MG 細胞を選択的に回収し各神経栄養因子 mRNA の発現を比較したところ、CO 群では有意に減少していたが、低酸素群では逆に IGF-1 および HGF の mRNA の発現が有意に増加していた。CO 群の海馬組織では、切断型カスパーゼ 3 及び BAK, BAD などの内因性アポトーシス促進因子 mRNA の発現上昇が認められた。

(考察および結論)

低酸素群では CD11b<sup>+</sup> / NG2<sup>+</sup>の活性化 MG が観察されたが、一方、CO 群では従来の DE 発症仮説である MG の活性化は認められなかった。また、CO や低酸素暴露による海馬のアポトーシス経路が異なることが示唆された。DE では、MG の減少により神経栄養因子の低下が起き、結果として、神経細胞やミエリンの傷害などの病態と関連する可能性がある。今後、神経栄養因子の補充が DE の治療となる可能性が示された。

平成 31 年 1 月 7 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) 研究に至った動機や臨床的 CO 遅発性脳症との関連について、2) 個体差や DE と低酸素脳症との違いについて、3) 超急性期での CO 暴露による変化について、4) DE でミクログリアが障害される原因について、5) DE での病理学的特徴について、6) 3 週以後の慢性期の影響について、7) 治療での神経栄養因子の役割について、など多くの質問が行われた。本論文はすでに一流国際誌に受理されており、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。