

学位論文の内容の要旨

専攻	分子情報制御医学	部門	分子神経機能学
学籍番号	10D742	氏名	檀上園子
論文題目	Pentylentetrazole-induced loss of blood-brain barrier integrity involves excess nitric oxide generation by neuronal nitric oxide synthase		

(論文要旨)

血液脳関門 (BBB) の機能不全はてんかんの病態生理学的要因の一つである。BBB不全による透過性の亢進はてんかん原性獲得に関与すると考えられている。我々はガドリニウム増強T1強調画像 (GdET1WI) を用いることでBBB透過性変化を評価した。本研究では、ペンチレンテトラゾール (PTZ) の急速投与によって誘発される全般性けいれん発作 (GCS) モデルマウスにおけるBBB透過性変化を検討した。

PTZ誘発GCSの出現から15分後、BBB不透過造影剤であるGd-HP-D03Aは脳実質内へ一時的に漏出した。特に大脳皮質、海馬、間脳にて透過性亢進が確認され、増強効果はそれぞれ $6.6 \pm 2.3\%$ 、 $7.4 \pm 3.1\%$ 、 $10.5 \pm 3.2\%$ (means \pm SEM) と有意に増加した。BBB透過性亢進はPTZ投与15分後にピークを認め、その後徐々に透過性は回復し、投与後24時間までに正常の状態に戻った。

PTZの効果は、GABA_A受容体の遮断によるグルタミン酸作動性神経の賦活化することによって引き起こされると考えられている。グルタミン酸作動性神経の活動はPTZ誘発BBB透過性変化に関与しているかを検討するために、NメチルDアスパラギン酸受容体 (NMDAR) アンタゴニストおよび α -アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾールプロピオン酸受容体 (AMPA) アンタゴニストを用いて検討した。NMDARアンタゴニストおよびAMPAアンタゴニストを前投薬されたマウスはPTZによって誘発されるBBB透過性変化が有意に抑制された。これらの結果は一時的なBBB透過性変化はPTZ投与によって発生するグルタミン酸作動性神経の活動に強く関係することを示唆した。

PTZはグルタミン酸作動性神経を賦活化し、それに続き一酸化窒素 (NO) はNMDARに結合している神経型NO合成酵素 (nNOS) によって産生される。PTZ誘発GCS時には非投与時と比較しNOは1.5倍と有意な増加を認めた。

PTZ投与によって誘発されるnNOS由来NOがBBB透過性変化にどのように影響するかを検討するために、nNOS欠損マウスを用いてGdET1WIを施行した。PTZ誘発に伴うBBB透過性変化はnNOS欠損マウスでは全く認められなかった。これらの結果は、グルタミン酸作動性神経の賦活化に伴うnNOS由来NOの過剰産生はPTZ誘発GCS中に生じるBBB透過性変化において重要な役割を持つことを示唆した。

PTZによって引き起こされるBBB透過性変化や過剰NO産生が脳内酸化ストレス状態にどのように関与するかを検討するために、チオバルビツール酸反応性物質 (TBARS) 量を測定した。nNOS+/+マウスでは、PTZ投与によってコントロールと比較するとTBARS量は約1.8倍と有意な増加を認めた。一方、nNOS欠損マウスでは、PTZ投与によってもTBARS量の増加は認められなかった。これらの結果はPTZによって引き起こされる酸化ストレスは、PTZ誘発NOに依存したBBB損傷を導く可能性を示唆する。

抗てんかん薬とPTZ誘発BBB損傷や過剰NO産生との関係を検討するために、GCSの第一選択薬であるバルプロ酸 (VPA) を用いた。VPA前投薬されたマウスは、PTZ投与にて生じるBBB損傷が有意に抑えられ、過剰NO産生も抑制された。

本研究結果より、脳内でnNOSによって合成された過剰NOはPTZ誘発GCS時のBBB損傷に関与し、過剰NOを調節することはBBB保護に対する今後の薬剤開発において重要なターゲットと成り得るかもしれないことが示唆される。

掲 載 誌 名	Brain Research		第 1530 卷, 第 12 号
(公表予定) 掲 載 年 月	2013 年 9月	出版社 (等) 名	Elsevier B.V.
Peer Review	有○		無