

審 査 結 果 の 要 旨

論文題目 「脊髄損傷ラットにおけるアミロライド投与によるオリゴデンドロサイトの生存および髄鞘形成への影響」

学位申請者 今井 洸

本論文は、脊髄損傷後2次傷害の一因となる損傷部位の細胞小胞体ストレス応答、特に再髄鞘形成を担う内在性オリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC)に着目し、その生存・分化及び再髄鞘形成に対して、米国FDAで利尿剤として臨床認可されている「カリウム保持性利尿薬アミロライド」の効果を、ラット脊髄圧挫損傷モデルを用いて検討した論文である。

脊髄損傷では、物理的損傷による一次傷害と遅発性損傷拡大である二次傷害がある。また、二次傷害は同時に再髄鞘形成を担う内在性オリゴデンドロサイト前駆細胞の生存を妨げ、組織・機能再生を阻害する主要因とされていることから、二次傷害抑制治療法の確立は重要な課題である。本研究では、ラット脊髄圧挫損傷モデルに対して、「OPCにおける小胞体ストレス応答能増強能とグリア細胞のアポトーシス抑制効果」が報告されている利尿薬アミロライドを、損傷後1日目より24時間毎に14日間腹腔内投与し、回復期におけるOPC増殖・分化能を検討した。さらに後肢の運動機能評価と感覚機能評価を行い、それぞれアミロライド投与群、非投与群で比較検討した。その結果、アミロライド投与により運動機能は損傷後56日まで有意に改善し、また感覚過敏は損傷後14日で有意な改善が認められた。損傷後に増殖したOPCは損傷後14日で、成熟オリゴデンドロサイトは損傷後56日で、アミロライド群で有意に増加していた。またWestern blot解析では髄鞘の量をしめすMyelin Basic Proteinが、電子顕微鏡の観察では再髄鞘化された軸索数および髄鞘の厚さが、損傷後28日よりアミロライド群で有意に高値であった。これらの結果は、アミロライドの小胞体ストレス応答能増強により、損傷後に増殖したOPCが生存し、成熟オリゴデンドロサイトへ分化し、再髄鞘形成に関わることで後肢機能の改善に寄与したことを示すものであり、脊髄損傷の二次傷害抑制効果が示唆された興味深い結果であった。

本論文に対して、各審査員より背景、目的、方法、結果、考察の各項目に対して次のような質疑が成された。

1. 本胸髄圧挫損傷モデルでは後索のミエリンのみならず前角細胞などに傷害を来す可能性はないか
2. アミロライドは圧挫損傷24時間後から投与されているが、その投与時期は至適か
3. 今後アミロライドを脊髄損傷患者に臨床応用する具体的計画はあるか
4. アミロライド腹腔内投与による体内動態、特に腎機能への影響はどうか
5. 髄鞘/軸索直径比の計測は恣意的にならないように行ったか
6. パーキンソン病、アルツハイマー病などにもアミロライドは有効との報告があるが、これら変性疾患と比べ今回対象とした脊髄損傷モデルによる効果の違いは何か
7. アミロライドの薬効発現機序について
8. 先行研究であるDurham-Leeの論文との違いについて
9. 中枢神経再生にとっての「適切な環境」とはどのようなものか

10. 本実験では、腹腔内投与によりアミロライドを投与しているが、当該薬剤の血液脳関門における透過性および体内での薬物代謝動態はどのようなになっているか
11. 胸髄損傷モデルにおいて、後肢の運動機能及び感覚機能が影響される結果は、解剖学的・生理学的にどのように説明するか
12. 脊髄損傷後の回復（再生）への年齢（加齢）の影響はあるか
13. 薬剤を用いた脊髄損傷の治療は、移植等を含めたその他の様々な脊髄損傷治療法の中で臨床的にはどのような位置づけになっているか
14. 細胞数の測定は具体的にどの部位で、どのように行ったのか
15. 感覚過敏を示す von Frey test は損傷後 14 日でのみ有意差がみられ BBB scale との結果に違いがみられるが、どのように解釈するのか
16. OPC 数の上昇（損傷後 14 日）から、成熟オリゴデンドロサイト数の上昇（損傷後 56 日）まではかなりのタイムラグがあるが、その間の細胞動向にはどのようなことが考えられるか

これらの多岐にわたる質問に対して、申請者は自らの研究成果と文献的考察、さらに実験遂行時に得られた知見等をも含めて、各審査員から指摘された疑問点についての的確に回答し、この論文が脊髄損傷による麻痺を軽減する新たな治療薬・治療法の開発に繋がり得ることを示すことができた。加えて、今後の臨床応用に向けて、解明すべき点についても十分に理解しており、さらなる研究の発展が期待された。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。したがって、申請者 今井 洸は東海大学博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	医学博士	玉木	哲朗	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士(医学)	秦野	伸二	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	瀧澤	俊也	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	松前	光紀	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士(医学)	渡辺	雅彦	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）