




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 454 号	氏 名	阿部英治
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	濱 田 文 彦	
	副査氏名	岸 川 哲 典	
	副査氏名	志 坂 正 男	
<p>論文題目 : The phosphatidylinositol-3 kinase/Akt pathway mediates geranylgeranylacetone- induced neuroprotection against cerebral infarction in rats Geranylgeranylacetone(GGA) による神経保護効果は phosphatidylinositol-3- kinase/Akt (PI3K/Akt) 経路の活性化を介して誘導される</p> <p>論文掲載誌名 : Brain Res. 1330, 151-157 (2010)</p> <p>論文要旨</p> <p>【緒言および目的】 学位申請者らのグループは、Heat Shock Protein 誘導剤である GGA の経口投与が、脳梗塞後の神経傷害に対して神経保護効果があることを報告してきた。本研究は、GGA による神経保護効果の機序を明らかにすることを目的として、特に PI3K/Akt 経路、 mitochondria ATP-sensitive potassium (mitoK_{ATP}) channel の関与に注目し、検討を加えた。</p> <p>【研究対象及び方法】 ラット中大脳動脈梗塞モデルに対し、虚血 48 時間前に GGA を経口投与し、24 時間後の神経症状 (neurological score により定量的に評価、高値ほど正常に近い) および梗塞容積を評価した。また、虚血 24 時間前に Diazoxide (DZX; mitoK_{ATP} channel opener) あるいは 5-hydroxydecanoate (5HD; mitoK_{ATP} channel inhibitor) を単独あるいは GGA 投与と併せて腹腔内投与し、神経症状を以下の 6 群で比較した (1 群 : control, 2 群 : 5HD, 3 群 : DZX, 4 群 : GGA, 5 群 : GGA+5HD, 6 群 : GGA+DZX (各 n=6))。さらに、GGA の神経保護効果における PI3K/Akt 経路の関与を明らかにするため、Wortmannin (Wort; PI3K inhibitor) を単独あるいは GGA 投与と併せて髄腔内投与し、神経症状、Akt 活性 (Akt の活性化型であるリン酸化型 Akt 量を Western blot により定量) を以下の 4 群で比較した (1 群 : control, 2 群 : GGA, 3 群 : Wort, 4 群 : GGA+Wort (各 n=6))。</p> <p>【結果と考察】 これまでの報告と同様に、GGA は単独で神経症状とともに脳梗塞体積を減少させた (以下の数値は neurological score, control: 8.5±0.4; GGA: 13.9±0.5)。DZX も単独で神経症状とともに梗塞体積を減少させた (DZX: 12.1±0.4)。GGA による神経保護効果は、5HD、DZX、Wort によりそれぞれほぼ完全に抑制された (GGA: 13.9±0.5; GGA+5HD: 8.3±0.6; GGA+DZX: 8.1±0.4; GGA+Wort: 8.4±0.5)。さらに、GGA の投与により、虚血によって誘導される活性化型 Akt 量が増加したが、これは Wort により抑制された。</p> <p>以上の結果より、GGA による脳梗塞後の神経保護作用には PI3K/Akt 経路の活性化と mitoK_{ATP} channel が関与することが示唆された。</p> <p>本研究は、GGA による脳梗塞後の神経保護効果の機序を明らかにした意義ある研究である。 審査委員会は、合議により、本論文を学位論文に値するものと判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 阿部 英治

論 文 題 目

The phosphatidylinositol-3-kinase/Akt (PI3K/Akt) pathway mediates geranylgeranylacetone induced neuroprotection against cerebral infarction in rats.

(Geranylgeranylacetoneによる神経保護効果は phosphatidylinositol-3-kinase/Akt 経路活性化を介し誘導される。)

要 旨

【緒言および目的】

脳梗塞の病態を決定づける多くの因子の挙動は未だ不明確である。Heat Shock Protein 誘導剤である Geranylgeranylacetone (GGA) は 600-800mg/kg の単回経口投与で脳梗塞に対する神経保護作用を有するものの機序は明確ではなかった。GGA の脳梗塞に対する神経保護効果の背景に phosphatidylinositol-3 kinase/Akt (PI3K/Akt) pathway, mitochondria ATP-sensitive potassium(mitoK_{ATP}) channel がどのように関与するか系統的に検討した。

【研究対象および方法】

中大脳動脈梗塞モデル(雄 Wister rat; 290-375g)に対し、虚血 48 時間前に GGA800mg/kg を経口投与し、24 時間後の神経症状および梗塞体積を評価した。虚血 24 時間前に Diazoxide (DZX; mitoK_{ATP} channel opener, 10mg/kg)あるいは 5-hydroxydecanoate (5HD; mitoK_{ATP} channel inhibitor, 40mg/kg) を単独あるいは GGA 投与と併せて腹腔内投与し神経保護効果への影響を 6 群で比較した(1群: control, 2群: 5HD, 3群: DZX, 4群: GGA, 5群: GGA+5HD, 6群: GGA+DZX(各 n=6))。さらに、PI3K/Akt pathway の関与を Wortmannin(Wort; PI3K inhibitor, 16 μg/kg)単独、dimethyl sulfoxide(DMSO)コントロール

あるいは GGA 投与と併せて髄腔内投与し神経保護効果への影響、p-Akt 活性 (Western blot) を 4 群で比較した (1 群: DMSO, 2 群: GGA, 3 群: Wort, 4 群: GGA+Wort (各 n=6))。

【結果】

既報のごとく、GGA は単独で脳梗塞体積を減少させた。DZX も単独で梗塞体積を減少させた ($P < 0.05$)。GGA は神経症状も軽減させ (control group: 8.50 ± 0.423 ; 5HD group: 8.875 ± 0.441 ; GGA-5HD group: 8.25 ± 0.62 ; DZX group: 12.125 ± 0.398 ; GGA-DZX group: 8.125 ± 0.441 ; GGA group: 13.875 ± 0.549 ; DMSO control group: 8.25 ± 0.526 ; Wort group: 7.75 ± 0.25 ; Wort-GGA group: 8.375 ± 0.532 ; DMSO-GGA group: 13.75 ± 0.648)、これらは梗塞体積と有意に相関した。神経保護効果は 5HD, DZX, Wort によりそれぞれほぼ完全に抑制された。Western blot 法による p-Akt 活性解析では、GGA は単独でも p-Akt を誘導し、虚血により誘導される p-Akt を増加させた。これらは Wort により抑制された。

【考察】

GGA の神経保護効果が Wort, 5HD により抑制された事実は、保護効果の背景にそれぞれ PI3K/Akt pathway, mitoK_{ATP} channel の関与を示唆する。PI3K/Akt pathway が直接 mitoK_{ATP} channel の開閉に関与するか否かは明確ではないが、本結果は両者の時系列的な関係を裏付けるものである。一方、単独では神経保護効果を有する DZX が GGA の神経保護効果を抑制したメカニズムは mitoK_{ATP} channel open に対する競合、GGA のもつ protein kinaseC 活性化で誘導される subtype の多様性など多くの可能性のあるところである。

【結語】

脳梗塞に対する GGA の神経保護効果は PI3K/Akt pathway 活性化、mitoK_{ATP} channel を介し誘導される。