

審査の結果の要旨

氏名 内野茂夫

中枢神経系の情報伝達において主要な役割を担うNMDA受容体チャネルを異常に活性化すると、神経細胞死が誘発されることが知られている。本研究は、NMDA受容体チャネルの異常な活性化を抑制する医薬開発のための評価系の構築、およびNMDA受容体チャネルの異常な活性化をもたらす虚血時の興奮性アミノ酸放出の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. NMDA受容体チャネルの構成的発現細胞株の樹立は、培地中のリガンド物質によるチャネルの活性化が細胞死を誘発することから困難である。そのため、熱ショックプロモーターを利用した誘導発現系を用いて発現細胞株を樹立した。
2. 樹立したNMDA受容体各サブタイプ発現細胞株について、43℃で2時間の培養後、3～12時間後に機能的なNMDA受容体チャネルが発現することをカルシウムイメージング法を用いて確認した。
3. 新規の非競合型NMDA受容体アンタゴニストであるPPDCを用いて、本発現細胞株が医薬評価系として利用できることを実証した。NMDA受容体各サブタイプに対するPPDCの阻害効果の序列は、GluRε4/ζ1 (IC<sub>50</sub>=1.59μM) > GluRε3/ζ1 (8.34μM) > GluRε2/ζ1 (13.4μM) > GluRε1/ζ1 (42.8μM) であった。

4. カルシウム蛍光指示薬を負荷した本発現細胞株 (E1細胞) の上に海馬切片を重層し、E1細胞の蛍光強度の変化を経時的にモニタリングすることで虚血時の海馬切片からの興奮性アミノ酸の放出を、実時間かつ二次元的に可視化した。その結果、興奮性アミノ酸は、虚血後数分でまずCA1領域から放出され始め、次いでCA3、歯状回、最終的に海馬切片全体から放出されることが示された。

以上本研究は、NMDA受容体チャネル各サブタイプの発現細胞株を用いた医薬品開発のための評価系を構築すると共に、その発現系を用いて虚血時の興奮性アミノ酸放出を実時間かつ二次元的に可視化する系の開発を報告したもので、NMDA受容体チャネルのサブタイプ選択的阻害剤の開発および興奮性アミノ酸放出の機構解明に貢献するものであり、学位の授与に値するものと認められる。