

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 奥 山 佳 代 子

脳梗塞では脳虚血に伴って重度の脳浮腫が発生し、重度症例では脳ヘルニアや脳幹圧迫等により死亡する場合もある。これらに対しては、集中的な治療を行う必要があるが、現在用いられている、高浸透圧薬剤、過換気やドレナージ等が常に高い効果を示すとは言えないため、より効果の高い脳虚血後の抗脳浮腫薬の開発が望まれている。

T-477 ((R)-(+)-2-(4-chlorophenyl)-2,3-dihydro-4-diethyl aminoacetyl-4H-1,4-benzothiazine hydrochloride) は新規Na⁺およびCa²⁺チャネル遮断薬であり、脳梗塞抑制による二次的な抗脳浮腫作用だけでなく、脳浮腫のうち、cytotoxic edemaと呼ばれる細胞浮腫に効果を示すことによって、比較的強い抗脳浮腫作用を有する可能性が考えられた。

そこで本研究では、まず無麻酔下ラットにマイクロスフェア誘発脳血管閉塞モデルを作成し、脳浮腫の進行・回復過程を8週間に渡って観察し、ヒトの脳浮腫との比較および薬物評価系としての有用性について検討した。次に、このモデルを用い、T-477の抗脳浮腫作用を検討した。さらに、T-477の作用機序を初代培養海馬神経細胞を用いて検討した。

第1章では、あらかじめ外頸動脈に設置しておいたカテーテルを介して覚醒下のラットにマイクロスフェアを注入し、その脳浮腫誘発作用を検討した。その結果、マイクロスフェア注入により、脳内水分含量は注入2日後に頂点に達し、2週間でほぼ完全に回復した。これはヒトの虚血後の浮腫形成過程とほぼ同様であった。脳内NaおよびK含量は、脳水分含量の変化とそれぞれ正および負の高い相関性をもって変化した。脳内Ca含量は、脳浮腫の進行期には水分含量と相関して増加したが、その後は高いレベルが維持された。病理組織学的検討では、脳虚血において認められる、梗塞→顆粒球の浸潤やグリア細胞の増加→軟化、海綿化→空洞化、石灰沈着等の過程がすべて観察され、本モデルはヒトの脳虚血に併発する脳浮腫に良く類似しており、薬効評価系としても優れていることが示された。

第2章では、このモデルを用い、最も一般的な脳浮腫治療薬であるglycerolの作用を評価した。1000個のマイクロスフェアを脳内へ注入した直後から、10%のglycerolを0.6ml/hrの速度で、腹大静脈にあらかじめ設置しておいたカテーテルを介して24時間連続静脈内投与を行った。その結果、glycerolは脳内水分、NaおよびCa含量の増加を有意に抑制した。次に、T-477の作用を、24時間連続投与および3時間投与を3時間の間隔を空けて2回繰り返す2通りの方法で検討した。その結果、どちらの投与方法でも用量依存的に脳浮腫を抑制し、Kの減少やCaの増加も抑制されたが、特に後者では脳水分含量

増加の抑制率は63.5%と高く、脳浮腫治療薬としては、glycerolの投与量が比較的多いことから、より有用であると考えられた。

第3章では、初代培養海馬神経細胞を用いて、T-477の抗脳浮腫作用の機序を検討した。T-477はCa²⁺チャンネルよりもNa⁺チャンネル遮断作用の方が5倍以上強いことから、実験にはNa⁺チャンネル開口薬であるveratridineによる細胞障害モデルを用いた。

その結果、T-477はラット初代培養海馬神経細胞におけるveratridine誘発細胞浮腫、細胞死、[Na⁺]、[Ca²⁺]、およびグルタミン酸遊離の増加を濃度依存的に抑制した。T-477による細胞浮腫抑制、[Na⁺]およびグルタミン酸遊離の増加抑制作用はNa⁺チャンネル遮断作用が寄与していると考えられた。また、最も弱かった[Ca²⁺]増加抑制作用もCa²⁺チャンネル遮断作用と比較すると、その効力は3倍以上強かったことから、Na⁺チャンネル遮断作用が機序であると推測される。従って、グルタミン酸遊離および[Ca²⁺]の増加に起因すると考えられる細胞死に対する作用も、その効力から考えても、Na⁺チャンネル遮断作用が寄与していると考えられた。

これらの結果から、T-477はNa⁺チャンネルの遮断によって、細胞浮腫すなわちcytotoxic edemaを抑制するとともにグルタミン酸等による細胞死を抑制し、虚血に併発する脳浮腫を二次的に抑制するのではないかと推察され、脳虚血急性期の有効な治療薬となり得ると考えられた。

以上要するに本論文は、新規Na⁺チャンネル遮断薬による脳梗塞後の脳浮腫治療の可能性とその機序を明らかにしたものであり、学術上・応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の論文として価値あるものと認めた。