

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 能登 貴久

脳血管障害は癌、心臓病と並ぶ日本人の三大死亡原因の1つであり、中でも脳の血管が閉塞することで発症する脳梗塞の発症率が著しく増加している。脳梗塞は致死的であるのみならず、死に至らない場合も言語・行動障害、失語症など重篤な後遺症が残り、quality of life に大きな悪影響を与えるが、有効な薬物療法がほとんどない。

タクロリムス (FK506) は 1984 年に我が国で発見された強力な免疫抑制剤で、細胞内の FK506 binding protein (FKBP) と複合体を形成してカルシニューリンの nuclear factor of activated T cell (NFAT) 脱リン酸化反応を阻害することを介して interleukin-2 などのサイトカイン産生を抑制することで免疫抑制作用を発揮している。このタクロリムスが虚血・再還流傷害にも有効であることが見出されたが、脳梗塞への有効性については不明であるので、申請者はラット脳梗塞モデルを用いてタクロリムスの神経保護作用とその作用機序を精査した。

はじめに、ラットの中大脳動脈を電気凝固により永久閉塞して作製する中大脳動脈永久閉塞モデルを用いてタクロリムスの神経細胞死抑制作用を検討し、タクロリムスが虚血に伴う大脳皮質（線条体、皮質虚血中心部ならびに皮質虚血周辺部）の神経細胞死を抑制する作用を有することを明らかにした。

ついで、ラット中大脳動脈永久閉塞モデルで認められた神経細胞死抑制作用の機序を明らかにするため、虚血性細胞死において重要な役割をはたすミトコンドリアについて解析した。ラット中大脳動脈閉塞モデルの大脳皮質虚血部においてはミトコンドリアから細胞質内へチトクローム C が遊離してカスパーゼ系を活性化してアポトーシスが誘起されていることが分かった。タクロリムスは大脳皮質と線条体とともにチトクローム C の遊離を抑制し、これによって神経細胞死が抑制されていると考えられた。

タクロリムスはリンパ球のみならず、顆粒球や単球などの様々な炎症細胞の浸潤を抑制する作用を有することが知られている。これらの組織に浸潤した炎症細胞は血管内皮へ接着して微小循環を障害し、組織を低酸素状態に陥れることで組織傷害を増悪化させていると考えられている。この低酸素状態と上述のミトコンドリア傷害が関連するか否か検討した。動脈を永久閉塞する中大脳動脈永久閉塞モデルと異なり、中大脳動脈を一過性に閉塞した後ふたたび血液を再還流させるモデルを作製し、大脳皮質における梗塞の進展、低酸素領域の変化、炎症細胞の接着、血流障害などについて調べた。その結果、低酸素領域で微小循環障害の原因となる好中球や血小板などの炎症細胞が血管へ接着していることが明らかになった。そこで、このラット一過性中大脳動脈閉塞モデルを用いてタクロリムスの効果を調べたところ、再還流後の好中球と血小板の局所的遊走による微小循環障害を抑制して一過性脳虚血による神経変性を軽減することが明らかとなった。

このように本研究によってタクロリムスは（１）大脳において虚血ストレスによるミトコンドリアからのチトクローム C の遊離を抑制することによって抗アポトーシス作用を発現すること、（２）再還流後の血球系細胞の遊走を抑制することによって微小循環を維持して神経細胞を保護することがわかった。すなわち、タクロリムスは虚血に起因する神経細胞死に対して細胞内と細胞外の両方の細胞傷害カスケードに対して抑制作用を有しているという新規知見を含む申請者の研究業績をとりまとめた論文の内容および関連事項について試験を行った結果、審査委員一同が博士（農学）の学位を受けるに必要な学識を有する者と認め、合格と判定した。