

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 いとう つよし
伊藤 強

MPTP をマウスに腹腔内 (ip) あるいは皮下 (sc) 投与すると、ドパミン神経が傷害されヒトパーキンソン病 (PD) の病態を良好に再現する。投与された MPTP は脳でグリア細胞内の MAO-B により 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺) となる。MPP⁺ は DAT を介してドパミン神経に侵入し、神経細胞死を起す。MPTP 投与マウスでは感受性に系統差が認められるが、その原因因子は明らかになっていない。本研究の第一章および第二章では MPTP 感受性の系統差について、関与が疑われる因子を MAO-B を中心に検討した。一方で、MPTP を ip 投与した C57BL/6 マウスでは、脳室下帯 (SVZ) における Dex 陽性神経芽細胞 (A cell) のアポトーシスが誘導されることが明らかにされている。第三章では、SVZ アポトーシス誘導における MAO-B の関与を調べた。

第一章

1) C57BL/6 (MPTP 高感受性) および BALB/c (MPTP 低感受性) マウスに MPP⁺ を側脳室内 (icv) 投与し、脳組織についてチロシン水酸化酵素 (TH) 免疫染色を行った。MPP⁺ 投与 BALB/c の TH 減少率は MPP⁺ 投与 C57BL/6 と比較し、有意に低かった。2) C57BL/6 に MPTP を icv 投与し、脳組織について TH 免疫染色を行った。C57BL/6 および BALB/c の両系統で TH の減少は観察されなかった。MPP⁺ を icv 投与しても、C57BL/6 は高感受性、BALB/c は低感受性を示したことから、MPTP 感受性の系統差に関与する因子は MPTP から MPP⁺ への代謝後に作用しており、MAO-B は関与しないことが示唆された。

第二章

1) C57BL/6 および BALB/c マウスに MPTP を ip 投与し、脳組織について TH 免疫染色を行ったところ、C57BL/6 の方が高感受性であることが確認された。2) 無処置の 2 系統の脳組織について Western blot 法を用いて、上記因子の発現量を比較したところ、BALB/c の線条体 DAT および中脳 TH 発現量は、C57BL/6 と比較し有意に高かった。3) 2 系統に MPTP を ip 投与し、2) と同様の解析を行った。MPTP 投与 BALB/c の MAO-B、nNOS、iNOS 発現量は MPTP 投与 C57BL/6 と

比較し、有意に高くなる傾向が見られた。MAO-B、DAT、nNOS、iNOS の発現量は MPTP 感受性の系統差に関与しないことが示唆された。

第三章

1) C57BL/6 マウスに MPTP あるいは MPP⁺を icv 投与し、SVZ を含む脳組織について TUNEL 染色を行ったところ、MPTP、MPP⁺投与群いずれも SVZ で TUNEL 陽性細胞の有意な増加を認めた。2) 1)と同様の処置を行った後、Dcx あるいは EGFR について免疫染色を行ったところ、MPTP 投与群、MPP⁺投与群いずれも Dcx 陽性細胞の有意な減少を認めた。3) C57BL/6 に MAO-B 阻害剤である (R(-)-deprenyl) を icv 投与後、MPTP あるいは MPP⁺を icv 投与し、SVZ を含む脳組織について TUNEL 染色を行ったところ、deprenyl の前投与により MPTP によるアポトーシスは抑制されたが、MPP⁺によるアポトーシスは抑制されなかった。4) 1)と同様の処置を行った後、抗 MAO-B および抗 GFAP 抗体を用いた蛍光二重免疫染色を行ったところ、すべてのマウスの上衣および SVZ に GFAP と MAO-B の共陽性細胞を認めた。以上の結果から、MPTP を icv 投与するとその代謝産物 MPP⁺により SVZ の A cell アポトーシスが誘導されること、さらに、MPTP から MPP⁺への変換には、上衣および SVZ の GFAP 陽性細胞の MAO-B が関与することが示された。

第一章および第二章から、MAO-B、DAT、nNOS、iNOS は MPTP 感受性の系統差に関与しないことが示された。また、この系統差は MPTP から MPP⁺への変換後に作用する因子であると考えられた。第三章から、SVZ 神経芽細胞のアポトーシスには MAO-B による MPTP から MPP⁺への代謝が必須であり、MPP⁺の直接作用でアポトーシスが誘導されることが分かった。

今回の一連の研究から、MPTP の神経細胞傷害機序における MAO-B の役割について新たな知見を得ることができた。本研究は PD の発症機序解明に大いに寄与すると考えられた。よって審査委員一同は申請者が博士（獣医学）の学位を授与するに値すると認めた。