

[過程一2]

## 審査の結果の要旨

氏名 堀川 弘吏

ラット全脳に6分の虚血負荷をかけると、海馬CA1領域に著明に細胞死が認められるが、その前に細胞死に至らない2分の虚血負荷をかけると (ischemic preconditioning)、その後の6分の虚血負荷に対して耐性を示すことが報告されている。Mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 (MKP-1)は神経細胞が耐性を獲得する2分の虚血負荷後、及び神経細胞死にまで至る6分の虚血負荷後の双方において著明に遺伝子発現が増大していた。本研究では動物モデル及び培養細胞を用い、そのMKP-1の発現と機能について解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

- 1、ラット中大脳動脈閉塞モデルを用いた検討により MKP-1 mRNA 及び蛋白質は虚血ストレス後、急性期に一過性に虚血辺縁部の神経細胞に特異的に発現レベルの上昇が認められる分子であることが示された。
- 2、MKP-1 は mitogen-activated protein kinase (MAP キナーゼ)を脱リン酸化する働きを持つと言われている。ラット中大脳動脈閉塞モデルによる検討において、MKP-1 の発現が認められた虚血辺縁部においては、MAP キナーゼの中でも ERK のリン酸化が虚血急性期の虚血辺縁部において起こっていることが示された。
- 3、酸化ストレスによる虚血性神経細胞死のモデル細胞株であるマウス海馬由来 HT22 細胞株を用いて、酸化ストレス下における MKP-1 の発現及び ERK のリン酸化についての検討を行ったところ、酸化ストレス負荷後、極めて早い時間に ERK のリン酸化と MKP-1 の発現が一過性に起こっていることが示された。
- 4、HT22 細胞にアデノウイルスを用いて MKP-1 を導入して強制発現させ、酸化ストレス後の神経細胞死につき検討し、MKP-1 の導入により細胞死が抑えられることが示された。

以上、本論文は ischemic preconditioning の後に著明な発現レベルの上昇を示していた分子である MKP-1 について、実際の脳梗塞の病態に近いラット中大脳動脈閉塞モデルを用いて解析し、MKP-1 が虚血辺縁部の神経細胞において急性期に一過性に発現上昇をきたす分子であることを示し、培養細胞を用いた検討より MKP-1 が細胞死に対して抑制的に働く可能性があることを明らかにした。従来の報告では MKP-1 は虚血ストレス下において JNK を抑

制することにより細胞死を抑制する可能性が推測されている。しかし今回の研究では、MAPキナーゼの他の経路のリン酸化は認められないものの、MKP-1の発現に先行して同じく虚血辺縁部においてERKのリン酸化が認められた。また持続するERKのリン酸化はむしろ細胞死を引き起こすという報告もあり、MKP-1の細胞死を抑制する機序としてERKの持続するリン酸化を抑制するという経路についても考慮が必要と考えられた。

本研究はこれらの ischemic preconditioning による虚血耐性の機序を解明することで、今後の脳梗塞治療に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。