

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	儀賀 普嗣
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1、2 項該当		
論文題目 Pharmacological and genetic inhibition of translocator protein 18 kDa ameliorated neuroinflammation in murine endotoxemia model (Translocator protein 18 kDa の薬理学的および遺伝的阻害はマウス内毒素血症モデルにおける神経炎症を改善する)			
論文審査担当者			
主査	教授	酒井 規雄	印
審査委員	教授	丸山 博文	
審査委員	准教授	鎌田 英明	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>敗血症関連脳症 (SAE) は、直接的な中枢神経系 (CNS) 感染に起因しない、敗血症に関連するびまん性脳機能障害と定義される。SAE は、せん妄から昏睡まで幅広い重症度の意識障害を引き起こすことが知られており、敗血症の診断基準を満たさないほどの急性期の軽度意識障害から長期の認知機能障害に至るまで長期間にわたり影響を与えることがわかっている。SAE の発症機序は依然不明だが、早期診断や予防および治療介入の方法の開発が望まれている。</p> <p>これまでの研究で、全身炎症がミクログリアを活性化し炎症誘発性メディエーターの放出を引き起こすことや、活性化ミクログリアが敗血症関連せん妄において重要な役割を果たすことが報告されており、ミクログリア活性化の分子メカニズムを解明することは SAE を理解する一助となる可能性がある。また、ミトコンドリア膜蛋白質であるトランスロケータータンパク質 18kDa (TSPO) は、サイトカイン放出や酸化ストレスなどの炎症に関与しており、活性化ミクログリアで発現が増加するため、CNS の炎症バイオマーカーとして注目を集めている。</p> <p>本研究では、TSPO 阻害が SAE の病態を改善できると仮定し、SAE モデルとしてリポ多糖 (LPS) マウスモデルを用いて、海馬におけるサイトカイン発現、ミクログリア活性化および自発運動活性に対する TSPO 阻害の効果について検討した。</p> <p>8~12 週齢の C57BL / 6J の雄マウスを用い、TSPO 阻害の方法として薬理的阻害と遺伝的阻害を併用した。薬理的阻害の方法として、TSPO アンタゴニストである ONO-2952 (ONO) を用いた。遺伝的阻害の方法として、TSPO ノックアウトマウス (TSPOKO) を用いた。</p> <p>全ての野生型マウスに LPS もしくは同量の生理食塩水を腹腔内投与し、腹腔内投与の 4 日前から TSPO アンタゴニストである ONO もしくはその vehicle (Veh) を投与した。TSPOKO マウスには LPS を腹腔内投与した。これらの組み合わせで、Veh + Saline 群、Veh + LPS 群、ONO + LPS 群、TSPOKO + LPS 群の 4 群における、定量的ポリメラーゼ連鎖反応(qPCR)、免疫染色、腹腔内投与前後のオープンフィールド試験による行動実験の結果が比較検討した。</p> <p>qPCR により、LPS 投与後 24 時間の海馬において TSPO 発現が優位に増加し、かつ TNF-α および IL-1β の発現が優位に増加することが確認された。ONO 投与により、TSPO 発現に差はなかったが、TNF-α および IL-1β の発現の有意な低下を認めた。TSPOKO では、TNF-α の発現の有意な低下が示された。</p> <p>Ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba1) の免疫染色の蛍光強度定量化により、LPS 投与後 24 時間の海馬において、ミクログリアが有意に活性化することが確認された。また、TSPO との 2 重染色の蛍光強度定量化により、活性化ミクログリアの細胞質で TSPO 発現が増加していることが分かった。ONO 投与により、ミクログリア活性化お</p>			

よび活性化ミクログリア内の TSPO 発現が有意に低下していた。また、TSPOKO では、LPS 投与後もミクログリアの活性化が認められなかった。

これらの結果が動物の行動にどのように影響するかを調べるため、LPS 投与前と投与後 24 時間のオープンフィールド試験を行った。LPS 投与は自発運動活性を強く抑制したが、ONO 投与および TSPOKO の介入により自発運動活性は有意な改善を示した。

以上の結果から、TSPO は全身性炎症によって誘発されるミクログリアの活性化、炎症誘発性サイトカイン産生を抑制し、その結果行動実験における自発的活動性低下を抑制したと考えられた。TSPO が SAE において重要な働きを果たしていることを示唆する本研究は、救急集中治療医学領域の発展に資すること大である。よって審査委員会委員全員は、本論文が儀賀 普嗣に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。