

## 学位論文審査の要旨

神経変性疾患の一因として興奮性神経毒性がある。興奮性伝達を担う N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体の作動により細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が増加するとミトコンドリア膜透過性遷移孔 (PTP) が開口し、 $\text{Ca}^{2+}$  や  $\text{H}^+$  だけでなく、 $\text{K}^+$  をマトリックス内へ流入させることで、ミトコンドリア内膜を脱分極させる。ミトコンドリアの脱分極の程度が大きい程、神経細胞死が誘引される。したがって申請者は、PTP 開口に伴いマトリックス内へ流入する  $\text{K}^+$  を細胞質基質から減少させることがミトコンドリア内膜の脱分極に起因する細胞死を抑制する可能性に着目した。研究を通して申請者は、ATP 感受性  $\text{K}^+$  ( $\text{K}_{\text{ATP}}$ ) チャンネル開口薬ミノキシジルにより細胞質基質の  $\text{K}^+$  濃度が低下した神経細胞では NMDA 誘発性神経細胞死が抑制されることを見だし、細胞内カリウムレベル低下が神経細胞保護効果をもたらすことを実証した。以下に本学位論文の審査結果を示す。

申請者は、6 週齢の C57/BL6 雄性マウスに 1 時間の中大脳動脈結紮術 (MCAO) を施し、再灌流 24 時間後の 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) 染色により梗塞巣を確認した。この梗塞巣は、MCAO 直後のミノキシジル (5 mg/kg b.w. ; 以下同じ) 投与により縮小し、ミノキシジルが神経組織保護作用を示すことが示唆された。

ミノキシジルの神経組織保護作用がミノキシジルの血圧低下作用に起因する可能性が考えられたため、申請者は、ミノキシジルと異なる系統の降圧薬によりミノキシジルと同等の血圧低下をもたらした条件で MCAO による虚血性神経組織傷害に対する保護効果について検討した。その結果、ドキサゾシン・ロサルタン (それぞれ 2 及び 30 mg/kg b.w.) 併用投与が最もミノキシジルによる血圧低下作用を模倣した。しかしながら同併用投与は、MCAO による虚血性神経組織傷害を抑制しなかった。したがって、ミノキシジルによる神経組織保護作用は少なくとも血圧低下と無関係である可能性が示唆された。

次に申請者は、マウス胎児大脳皮質由来初代培養神経細胞のミトコンドリア脱分極を、ミトコンドリア膜電位指示薬 DiSC<sub>3</sub>(5) を用いて測定した。その結果、培養神経細胞に NMDA を曝露すると、指示薬の蛍光強度が増加し、これはミノキシジル前処置で抑制された。また、申請者は、NMDA 曝露がミトコンドリアからのチトクロム c の細胞質への遊離、カスパーゼ 3 の活性化及び MTT 還元能の低下をもたらすが、ミノキシジル前処置はこれらをすべて抑制することを明らかにした。したがって

ミノキシジルは、 $K_{ATP}$  チャネル開口によりミトコンドリアの脱分極に寄与する細胞質基質  $K^+$  の絶対量を減少させることで、ミトコンドリアの脱分極及び機能障害を抑制した可能性が示唆された。

さらに申請者は、MCAO 処置マウス脳や、培養神経細胞での上記ミノキシジルの作用が  $K_{ATP}$  チャネル特異的阻害薬グリベンクラミドにより抑制されるか検討した。その結果グリベンクラミドは、ミノキシジルによる MCAO 処置マウスの梗塞巣を有意に減少させ、また、ミノキシジルによる培養神経細胞の細胞膜の  $K^+$  透過性亢進及び細胞内  $K^+$  レベル低下を共に抑制した。したがって、ミノキシジルとグリベンクラミドは  $K_{ATP}$  チャネル上で拮抗的に作用し、ミノキシジルの神経組織及び神経細胞保護作用が  $K_{ATP}$  チャネル開口に起因する細胞内  $K^+$  レベル減少を介したものであることが示された。

以上、本申請者は、細胞内  $K^+$  レベルが神経細胞の脆弱性を決定する因子である可能性が示唆されること、及び、 $K_{ATP}$  チャネル開口薬には興奮性神経毒性を抑制する作用があることが示唆されることを明らかにした。今後の研究により、神経変性疾患では神経細胞内の  $K^+$  濃度が徐々に増加することで神経細胞が脆弱になっていることが明らかになれば、中枢神経系に特異的に作用し、神経細胞内の  $K^+$  濃度を低下させる薬物は、神経変性疾患に対して有効な予防または治療のために有用となる可能性が示唆される。高齢化社会及び人生 100 年時代において神経変性疾患の予防及び根本的治療法の開発が急がれる中で、本研究成果が貢献しうる可能性は高い。以上の観点から、本論文は博士（薬学）の学位論文としてふさわしいものと判断した。