

氏 名 三 矢 幸 一

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 (論) 第 3 6 4 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 2 1 年 3 月 2 5 日

学 位 論 文 題 目 Persistent zinc depletion in the mossy fiber terminals in the intrahippocampal kainate mouse model of mesial temporal lobe epilepsy.

(海 馬 内 カ イ ニ ン 酸 投 与 ・ 内 側 側 頭 葉 て ん か ん マ ウ ス モ デ ル に お け る 苔 状 線 維 終 末 の 持 続 的 な 亜 鉛 減 少 に つ い て の 研 究)

審 査 委 員 主 査 教 授 木 村 宏

副 査 教 授 野 崎 和 彦

副 査 教 授 松 末 吉 隆

論文内容要旨

※整理番号	368	(ふりがな) 氏名	みつや こういち 三矢 幸一
学位論文題目	Persistent zinc depletion in the mossy fiber terminals in the intrahippocampal kainate mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. (海馬内カイニン酸投与・内側側頭葉てんかんマウスモデルにおける苔状線維終末の持続的亜鉛減少についての研究)		
<p>シナプス小胞内の亜鉛はグルタミン酸とともに放出され、グルタミン酸神経伝達に対し主に抑制性調整を行う。このシナプス小胞内の亜鉛の分布は Timm 染色によって調べることができ、脳においては海馬顆粒細胞の軸索である苔状線維終末に最も多く分布している。海馬内カイニン酸投与によって誘導される内側側頭葉てんかんマウスモデルではカイニン酸投与後 2 週間以内にこの苔状線維の高度な神経萌芽が生じ、それは Timm 染色でとらえられる。しかしながら、他のモデルとは異なり、その後 Timm 染色性は低下し消失する。本研究ではこの Timm 染色性の減少を生じる原因機構について明らかにすることを目的とし行った。</p> <p>カイニン酸投与後 4 日目から 56 日目までの間で Timm 染色、VGluT1(細胞質からシナプス小胞内へのグルタミン・トランスポーターでグルタミン神経終末の分布を示す)、Synapsin-1(神経伝達物質の放出に関連する蛋白で苔状線維終末に多く分布する)、ZnT-3(zinc transporter 3: 細胞質からシナプス小胞内への亜鉛の主要なトランスポーターで亜鉛陽性終末の分布を示す)の免疫組織化学を行った。</p> <p>このマウスではカイニン酸投与後 14 日目頃より主にカイニン酸投与海馬に局限したてんかん性脳波異常を生じ、次第に増強し 56 日目には頻回に発作を生じるようになるが、このてんかん性異常波はミダゾラム (ベンゾジアゼピン系薬剤) の持続投与により抑制される。ミダゾラム持続投与前後での海馬内のグルタミン酸放出をマイクロダイアリースにより測定し、Timm 染色性の変化を検討した。</p> <p>カイニン酸投与後 14 日目より Timm 染色性は徐々に減少し、56 日目には完全に消失していた。しかしながら、苔状線維神経終末に発現の強い Synapsin 1 やこの終末の分布を示す ZnT3 は顆粒細胞層や顆粒細胞層上部の分子層でカイニン酸投与後 14 日目以後も増加しており、かつそれら陽性終末は VGluT1 陽性であり、グルタミン酸神経終末であることが確認された。上述の如く、このマウスではカイニン酸投与後 14 日目頃よりてんかん性異常波が出現し、次第に増加する。Timm 染色はこのてんかん性異常波の増加に逆相関するように減少し、56 日目には消失するが、この時期にミダゾラムを持続投与すると投与中には発作波は</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

消失しグルタミン酸放出は減少していた。その直後に灌流固定を行い Timm 染色を行うと ZnT3 で染色される領域に一致してその染色性は回復していた。

以上の結果より、このモデルにおける Timm 染色性の低下は苔状線維の神経終末の退宿によるものではなく、その神経終末の亜鉛含有の低下によることが明らかとなった。その原因としては頻発するてんかん性異常放電によるグルタミン酸放出に伴い、同時に放出される亜鉛の枯渇が原因であることが示された。亜鉛の苔状線維終末への取り込みはグルタミン酸の取り込みより遅いことが知られており、この取り込みの早さの違いが今回の亜鉛の枯渇の原因と考えられた。またミダゾラム投与の結果よりこの変化は可逆的である事が示された。亜鉛はグルタミン酸放出に対する神経の興奮を抑制的に調整することが知られているが、この亜鉛が低下することにより、シナプスの興奮性は高まるものと考えられる。この相対的な興奮性の増強は更にこのモデルのてんかん源性を促進し、このモデルの特徴である急速に進行する形態変化の一因になるものと推測された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	368	氏名	三矢 幸一
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>海馬内カイニン酸投与・内側側頭葉てんかんマウスモデルは多くの点でヒトの内側側頭葉てんかんと類似点をもつ。このモデルでは、カイニン酸投与後2週間程度で海馬顆粒細胞・苔状線維が発芽するが、その発芽過程は苔状線維が含有する亜鉛を Timm 染色で観察できる。亜鉛陽性の神経発芽は、他の多くの動物モデルにおいて時間とともに増強するとされるが、本モデルでは逆に発作の増強とともに減少するという特色をもつ。</p> <p>本研究では、この特色の原因を解明するため Timm 染色に加え、小胞性グルタミン酸トランスポーター、シナプシン1 および亜鉛トランスポーター3の免疫染色法を用い、さらには抗てんかん薬ミダゾラムの投与前後における海馬内グルタミン酸の放出量を微量透析法で解析したものである。</p> <p>その結果、本モデルにおける Timm 染色性の低下は苔状線維の発芽退縮によるものではなく、発芽終末から過剰放出されるグルタミン酸とともに亜鉛が放出され枯渇すること、またこの枯渇はミダゾラム投与により拮抗できることが立証された。</p> <p>本研究は、てんかんの脳内神経機構を分子レベルで解明した点において、博士(医学)の授与に値するものと認められた。</p>			
(平成20年 2月 5日)			