

ある行動異常を特徴とする。Scn1a 変異マウスの、てんかん発作は Dravet 症候群患者の発作と類似していると考えられているが、行動異常については研究されていない。本研究では、てんかん性脳症における脳機能障害を解明するため、R1407X 変異を有する Scn1a 変異マウス (C57BL/6J) の行動につき、変異を有さない同系マウスと比較した。Scn1a 変異マウスが Dravet 症候群患者で報告されている多動や社会性障害等の自閉傾向のある異常行動に類似した行動を呈することを確認した。Scn1a 変異マウスは Dravet 症候群というてんかん性脳症のマウスモデルとして有用であることを確認した。本論文はこの点で価値がある。

氏名	孫 芳
学位の種類	博士 (医学)
学位授与の番号	甲第 491 号
学位授与の日付	平成 22 年 3 月 19 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 (医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	The role of the large-conductance voltage-dependent and calcium-activated potassium (BK_{Ca}) channels in the regulation of rat ductus arteriosus tone (ラット胎仔動脈管におけるラージコンダクタンスカルシウム依存性カリウムチャネル (BK _{Ca}) の発現の検討)
主論文公表誌	Heart and Vessels 掲載予定
論文審査委員	(主査) 教授 岡野 光夫 (副査) 教授 萩原 誠久, 川上 順子

論文内容の要旨

〔目的〕

生後の動脈管 (DA) の閉鎖は胎児循環から体循環に移るために重要である。生後の血中酸素濃度の上昇により平滑筋細胞 (SMC) の脱分極を伴う DA の閉鎖が始まる。カリウム (K⁺) チャネルは膜電位すなわち血管張力を制御する。血管平滑筋の K⁺チャネルには、ラージコンダクタンスカルシウム依存性 K⁺ (BK_{Ca})、膜電位依存性 K⁺ (K_v)、ATP 依存性 K⁺ (K_{ATP}) チャネルが知られている。K_v と K_{ATP} は酸素感受性であることが知られているが、BK_{Ca} の研究は少ない。本研究の目的は DA の発達に伴う BK_{Ca} の変化を研究することである。

〔対象および方法〕

ウイスターラット妊娠 19 日胎児 (早産児), 21 日胎児 (満期胎児) および生後 1 時間の新生児の DA を試料とし、BK_{Ca}α および β (1, 2, 3) mRNA 量を定量リアルタイム PCR により測定した。蛍光免疫染色法により α および β1 の分布を検討した。DASMCs を調製しパッチクランプ法により BK_{Ca} 電流を測定した。BK_{Ca} 選択的活性化剤 NS1619 および特異的阻害剤 paxilline を必要に応じて用い、低酸素または酸素飽和条件下、胎児動脈管の張力を筋運動記録法により測定した。

〔結果〕

これらの血管において β1mRNA の発現は比較的高かったが、α は低かった。免疫染色の結果、19, 21 日胎児および新生児の DA の内膜、中膜および外膜に α と β1 の発現があり、これらは α 平滑筋アクチンの分布とほぼ一致した。α と β1 の mRNA ならびにタンパク質量は新生児において最も低かった。DASMC の最大 BK_{Ca} 電流は 21 日胎児で最も高く新生児で低かった。酸素飽和条件下 21 日胎児 DA は張力の上昇を示したが、19 日胎児 DA では上昇はごくわずかであった。低酸素および酸素飽和条件下 19, 21 日胎児 DA の張力に paxilline (20μM) は影響しなかった。NS1619 (100μM) は低酸素条件下では 21 日胎児 DA の張力に影響しなかったが、酸素飽和条件下 DA が収縮した状態では張力を低下させた。NS1619 は 19 日胎児 DA の張力には影響を与えなかった。

〔考察〕

α と $\beta 1$ の発現ならびに BK_{Ca} 電流が生後顕著に減少したことから、 BK_{Ca} は DASMC の総 K^+ 電流を下げるという点で DA の閉鎖に寄与する可能性が考えられる。低酸素および飽和酸素条件下、paxilline が満期胎児 DA の張力に影響を与えなかったことから、 BK_{Ca} 電流は満期胎児 DA の張力に関与せず、酸素による DA 収縮にも寄与しない。未熟 DA は生後開存する傾向があるが、これは未熟 DA に BK_{Ca} が比較的多く発現していることにより説明できるのかもしれない。

〔結論〕

DA の発達に伴う BK_{Ca} の減少は正常に DA を収縮するために必要である。 BK_{Ca} 活性化剤 NS1619 は肺動脈閉鎖の場合外科的介入までの生命維持のため DA を開存する目的で臨床応用が期待される。

論文審査の要旨

動脈管開存症は小児循環器分野では比較的高頻度の先天性心疾患の一つである。カリウム (K^+) チャネル (例えば膜電位依存性や ATP 依存性) は、生後の酸素による動脈管 (DA) の収縮に関与することが知られているが、他の K^+ チャネルの研究は少ない。申請者はラージコンダクタンスカルシウム依存性 K^+ チャネル (BK_{Ca}) について詳細な検討を行った。未熟および成熟胎仔、ならびに新生仔ラット DA を用いた実験の結果、 BK_{Ca} は酸素誘導の DA の収縮には関与しないが、 BK_{Ca} 活性化剤 (NS1619) は生後の DA の開存維持に有効であることを見いだした。プロスタグランジン E (PGE) は DA の開存維持に用いられるが、副作用も多いため最良の治療法ではない点を考慮すると、外科的処置までの生命維持に BK_{Ca} 活性化剤が有効となりうると考えられた。

このように、本論文は動脈管開存症に BK_{Ca} 活性化剤が PGE に勝る可能性を示唆し、その研究は極めて意義があり、学位論文として価値あるものと判定された。

55

氏名	関根和希
学位の種類	博士 (医学)
学位授与の番号	甲第 492 号
学位授与の日付	平成 22 年 3 月 19 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 (医学研究科専攻、博士課程修了者)
学位論文題目	Assessment of the cell viability and metabolism of multi-layered cell sheets with insufficient supply of oxygen and nutrients, and a possible solution for overcoming the diffusion limit (細胞シートの多層化による 3 次元組織の構築—拡散の限界とその克服—)
主論文公表誌	Tissue Engineering: Part A 投稿中
論文審査委員	(主査) 教授 岡野 光夫 (副査) 教授 櫻井 裕之, 江崎 太一

論文内容の要旨

〔目的〕

細胞シート工学は細胞シートを積層化することで生体同様の細胞密度の高い 3 次元組織の構築を可能とする。しかし、3 次元組織内部の虚血により、再構築できる組織の厚みには限界がある。これまでに、特に *in vitro* においては作製可能な組織の厚さについての詳細な研究は行われていない。そこで本研究では細胞シートを一枚一枚積層することで組織の厚みを制御し、再構築可能な組織の厚みの限界を明らかにした。また、この限界を克服するための培養法を検討した。