

氏名	薩日娜
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位記授与番号	博甲第 4747 号
学位授与の日付	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科創薬生命科学専攻 (学位規則第 5 条第 1 項該当)
学位論文の題目	アルテミシニンによる PC12 細胞の神経突起伸長誘導とその機構に関する神経栄養学的研究
論文審査委員	教授 上原 孝 教授 田中 智之 准教授 上田 真史 教授 成松 鎮雄

学位論文内容の要旨

アルテミシニンはキク科ヨモギ属の植物クソニンジンから分離・抽出されたエンドペルオキシド化合物であり、熱帯熱マラリア原虫を選択的に死滅させる効果を発揮する。その半合成誘導体が抗マラリア薬として臨床で用いられているが、高用量では神経毒性を示すとされている。しかし、その毒性作用メカニズムは未だ明らかになっておらず、著者はその解明を目指して神経前駆モデル細胞である PC12 を用い検討を行った。

アルテミシニンは濃度依存的に比較的弱い細胞毒性を示したのに対し、その誘導体であるアルテメーター、アルテスネイトおよびジヒドロアルテミシニンはアルテミシニンより強い細胞毒性を示した。一方これらとは違いエンドペルオキシドブリッジ構造を持たないデオキシアルテミシニンは全く毒性を示さなかった。著者はこの研究過程でアルテミシニンが PC12 細胞分化の指標である神経突起伸長を誘導することを見出した。臨床応用されている薬物が神経細胞への分化誘導作用を發揮することに興味を持ち、その作用の詳細とメカニズムを調べた。

アルテミシニンの神経突起伸長誘導作用は 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ から認められ、25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で最大効果を示した。この最大効果は 1 ng/mL の NGF と同程度であった。また、アルテミシニンの添加により神経細胞分化の初期マーカーである $\beta_{\text{III-tubulin}}$ の発現も増加した。デオキシアルテミシニン以外の上記アルテミシニン誘導体も神経突起伸長誘導作用を示したが、それらの最大作用はアルテミシニンよりも弱かった。アルテミシニンによる最大神経突起伸長誘導は NGF と相乗的であったが、ジブチリル cAMP (Bt_2cAMP) とは相加的以下であり、 Bt_2cAMP との作用機序の類似性が示唆された。アルテミシニン処理により細胞内 cAMP レベルは変化しなかったが、転写因子 CREB の活性化 (リン酸化) が速やかに起こり、30 分では元に戻ることが分かった。また、CREB リン酸化を促進するとされている MAPK カスケードの ERK および p38 MAPK のリン酸化も同処理により同様なタイムコースで上昇した。両 MAPK カスケードそれぞれの特異的阻害剤である PD98059 および SB203580 によりアルテミシニンの神経突起伸長作用が有意に抑制された。アルテミシニン誘導性の CREB および ERK のリン酸化は PD98059 の前処置によりほぼ完全に抑制されたが、SB203580 の前処置では影響を受けなかった。さらに、ラジカル消去剤、Ca イオン阻害剤並びにカルモジュリンキナーゼ II (CaMKII) 阻害剤によりアルテミシニンの神経突起伸長誘導作用が抑制された。Ca イオン阻害剤および CaMKII 阻害剤はまたアルテミシニン誘導性の ERK および CREB のリン酸化も強く抑制した。

結論として、著者はアルテミシニンが PC12 細胞の神経突起伸長を誘導することを初めて明らかにした。その神経突起伸長誘導作用メカニズムには ERK および p38 MAPK の両 MAPKs と CREB の活性化の関与が示され、CREB の活性化はその大部分が ERK を介するものであった。ERK 活性化の上流にはアルテミシニンの分子内エンドペルオキシドブリッジ構造からのフリーラジカルの産生、Ca イオンおよび CaMKII の関与が示唆された。

論文審査結果の要旨

先に提出された初稿の学位論文では、実験結果に基づく考察の展開が不明瞭な部分があることを審査委員会で指摘された。また、一部の実験において適切な薬物処理が行われておらず、明瞭な結論を得るには不十分な箇所も見受けられた。これらの問題点に対して、申請者は訂正・修正を行い、改訂された学位論文を提出してきている。指摘された点はすべて修正されていることを確認した。審査委員会ではこの点を踏まえ、本学位論文は学術的な意義を有していることで意見が一致した。したがって、博士の学位に値すると判断し、最終的に合格とした。