学位授与番号	医博甲第1464号
学位授与年月日	平成13年3月31日
氏　　名	塚　田　利　幸
学位論文題目	虚血性神経細胞死におけるCAD（caspase-activated DNase）とDNase IIの関与
論文審査委員	主　査　教　授　山　下　純　宏
	副　査　教　授　山　田　正　仁
	教　授　小　川　　智

内容の要旨及び審査の結果の要旨

虚血性神経細胞死のメカニズムに関しては、主としてげっ歯類や培養細胞を用いた研究に基づきアポトーシス説が多数報告されている。しかし、どのような分子が細胞死を決定もしくは実行しているのかは現在なお不明である。本研究は、霊長類の海馬 CA1 に生ずる虚血性神経細胞死がアポトーシス、ネクローシスのいずれによるものか、また、その最終実行因子は何であるかを明らかにすることである。本研究においては、ニホンザルを用いて 18 分間の全脳虚血を行い、CA1 の神経細胞において、アポトーシス経路の最終実行因子である CAD と神経細胞死の関与、およびネクローシスにも関与し得る DNase II と神経細胞死の関与について検討した。シークエンスディテクターを用いて虚血前後の CA1 における CAD の mRNA 発現量を検索した。また、イムノブロット法と免疫組織化学的手法を用いて、CA1 における CAD と DNase II の蛋白発現および細胞内局在を検索した。さらに、電子顕微鏡ならびに DNA 断片化の解析を行い虚血性神経細胞死の細胞死パターンがアポトーシス、ネクローシスのいずれであるかを検索した。得られた結果は以下のように要約される。

1. CAD の mRNA と蛋白発現量は、虚血後 1 日で有意に増加した。また、CAD 蛋白は、虚血後、細胞質から核内へと移行した。

2. DNase II 活性型蛋白の発現量は、虚血後 2、3 日で有意に増加していた。DNase II 蛋白は、虚血後、細胞質から核内へと移行した。

3 虚血後の CA1 神経細胞は TUNEL 染色陽性を示した。しかし、これらの神経細胞は、光学顕微鏡において好酸性の凝固壊死を示し、電子顕微鏡においてもネクローシスの形態を呈した。

4. DNA 断片化の解析においてもアポトーシスに特徴的なラダー像はみられず、ネクローシスに特徴的なスメアー像を呈した。

以上、ニホンザルの海馬の虚血性神経細胞死はネクローシスによるもので、アポトーシス経路が最終経路まで働いてはいるものの、直接的には細胞死を誘発していないことが示唆された。虚血後発現量の増加をきたしたライソゾーム内酵素である DNase II のライソゾーム外への放出が、ネクローシスを誘発する主要な原因の一つであることが示唆された。

本研究は、脳虚血時に生じる神経細胞死の機序を霊長類で解明したものであり、神経科学の発展に寄与する価値ある労作と評価された。