

学位授与番号：甲 1 0 2 0 号

氏 名：辻 恵

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 28 年 5 月 11 日

学位論文名：

**Enhanced long-term potentiation in mature rats in a model of epileptic spasms with betamethasone-priming and postnatal NMDA administration.**

学位論文名（翻訳）：

（ベタメサゾンと NMDA によって誘発される幼弱期けいれん性疾患モデルの成熟後高次脳機能の異常）

学位審査委員長：教授 大橋十也教授

学位審査委員：教授 河合良訓教授 教授 井田博幸教授

# 論 文 要 旨

論文提出者名	辻 恵	指導教授名 加藤総夫
--------	-----	------------

主 論 文 :

Enhanced long-term potentiation in mature rats in a model of epileptic spasms with betamethasone-priming and postnatal NMDA administration.

(ベタメサゾンと NMDA によって誘発される幼弱期けいれん性疾患モデルの成熟後高次脳機能の異常)

Megumi Tsuji, Yukari Takahashi, Ayako M. Watabe, Fusao Kato.

Epilepsia, 2016; in press (published online: 21 Jan 2016 | DOI: 10.1111/epi.13315).

乳幼児期発症の epileptic spasms は、発症期のけいれん抑制が得られても成長後において精神発達遅滞や高次脳機能障害を呈することが知られているが、その長期的予後改善のための治療的介入手法は著しく限られている。この成熟後脳機能障害に対する治療戦略の開発にはその遠隔期障害機構の解明が必須である。近年新たに開発されたステロイド投与による胎生期母体ストレスとグルタミン酸受容体特異的活性化による epileptic spasms モデルを用い、乳幼児期けいれん性疾患により生じる脳成熟過程障害における生理学的機構の解明を目的とした。

妊娠 15 日に母親ラットにベタメサゾンを腹腔内投与したのち、生後 12 日-15 日の 3 日間の (1) NMDA 腹腔内投与群、(2) 加えて 3 日間の ACTH 投与を行う NMDA/ACTH 群、および (3) 生食投与コントロール群を設定し以下の解析を行った。行動観察上、NMDA 群および NMDA/ACTH 群ラットは、いずれも、特徴的なシリーズ形成性 spasm を示したが、5 秒以上の spasm 性動作停止を示す個体は NMDA/ACTH 群で NMDA 群に比し有意に減少していた。6-10 週齢において急性海馬スライス標本を作成し、CA1 におけるシナプス伝達とその可塑的变化を評価したところ、theta burst 刺激によって生じるシナプス伝達長期増強の増大率がコントロール群・NMDA/ACTH 群に比し NMDA 群で有意に増加していた。一方、CA1 錐体細胞から記録した興奮性シナプス後電流の頻度は NMDA 群で有意に低下していた。これらの結果は、ラットにおいて、幼若期のスパズム経験が、成熟後、記憶・学習に中心的役割を担う海馬のシナプス伝達とその可塑性の障害を呈する事実を示している。これは、同モデルにおいて成熟後遠隔期の高次脳機能障害を初めて再現した研究成果であり、epileptic spasms の神経学的予後改善の治療戦略開発の上での貴重な基礎所見となると期待される。

## 論文審査の結果の要旨

辻恵氏の学位申請論文は主論文1編参考論文10編からなり、主論文のタイトルは「Enhanced long-term potentiation in mature rats in a model of epileptic spasms with betamethasone-priming and postnatal NMDA administration.」、日本語では「ベタメサゾンとNMDAによって誘発される幼弱期けいれん性疾患モデルの成熟後高次脳機能の異常」と題され、2016年にEpilepsia誌に発表された。同誌のインパクトファクターは2014年で4.571である。以下、審査委員会における審査結果を記載する。

平成28年4月20日、河合良訓、井田博幸両審査委員出席のもとに公開学位審査会を開催し、辻氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を実施した。試験では以下のような質問があった。

1. P12-15にNMDAを投与した理由は何か？
2. NMDAがシナプス形成に与えた影響はないのか？
3. 海馬のEEGと採った時期はいつか？
4. LTPの変化のメカニズムは何か？
5. ヒトの疾患でACTHによる治療はコルチゾールでも代償できるのか？
6. NMDAの投与だけでもモデルは出来るか？
7. 海馬のEEGはヒプスアリスミアといえるのか？
8. このモデルマウスは長期に痙攣を起こすのか？
9. 評価時期が6-11週と幅が広いが、人間でいうとどの時期にあたるのか？また評価時期が広い理由は何か？
10. ACTHによる治療が疾患誘導後すぐに行っているが、もっと遅く行った場合はどうなるか？早期治療群と晚期治療群で治療効果を比較するべきではないか？
11. ACTHの投与量は適切か？
12. 脳の病理学的検討は行ったか？
13. 行動実験などにより認知障害があることを確認したか？
14. 蛋白質の変化の網羅的解析を行ったか？
15. 本モデルが点頭てんかんのモデルで他の痙攣性疾患のモデルではないと言える根拠は何か？
16. NMDAモデルより遺伝子改変モデルの方がより明確な結論を得られるのではないか？
17. NMDA投与による霊長類モデルは存在しないのか？
18. 統計的解析を2種類用いているが、どちらの結果を信頼すべきか？本来なら最初から統計手法も決めるべきではなかったか？
19. 人に比べてACTHの効果が少ないと思われるが理由は何か？

上記質問に対して辻氏は適切に回答した。その後、河合、井田両教授と慎重に審議した結果、今回の研究はepileptic spasmsの重要な合併症である、高次脳

機能障害の原因の一旦を明らかにし、将来の治療法開発へも繋がる重要な研究と判断し、学位申請論文として十分にその価値が認められると結論した。