

論文内容要旨

論文題目

海馬スライスにおける酸素グルコース欠乏負荷条件下での
 ζ 型ジアシルグリセロールキナーゼの細胞内局在変化

責任講座：耳鼻咽喉・頭頸部外科学講座

氏名：鈴木 祐輔

【内容要旨】(1,200字以内)

ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) は DG の代謝を介して細胞内情報伝達に重要な役割を果たす。我々はこれまで、DGK アイソザイムの 1 つである DGK ζ が正常では核内に局在するが、一過性脳虚血 (20 分間) モデルラットの海馬 CA1 錐体細胞において細胞質に移行することを報告した。しかし、虚血ストレスによる DGK ζ の細胞質への移行に関するメカニズムおよび機能的意義は未だ不明である。

本研究では、脳虚血負荷実験をシミュレートするためにラット海馬スライスを用いて酸素・グルコース欠乏負荷 (oxygen-glucose deprivation : OGD) による DGK ζ の細胞内局在の経時的変化を詳細に検討した。

DGK ζ は OGD 負荷 20 分後から徐々に海馬錐体細胞において核から細胞質へ不可逆的に移行し、その後酸素・グルコースの再添加を行っても核内に戻ることはなかった。一方、OGD 負荷 10 分直後では DGK ζ の細胞質移行は認められないが、その後の酸素・グルコースの再添加により 60 分後には DGK ζ が完全に細胞質へ移行することが明らかとなった。また、DGK ζ が細胞質へ移行した細胞には核委縮が認められ、DGK ζ の細胞質移行と OGD 負荷による細胞障害は相関関係を示すと考えられた。これらの結果から 10 分間の OGD 負荷により細胞死カスケードが作動し、DGK ζ の細胞質への移行が誘導された可能性が示唆された。

さらに通常条件下において、グルタミン酸受容体アゴニストの 1 つである NMDA の添加により DGK ζ の細胞質移行が誘導され、一方 OGD 負荷時においても NMDA 受容体の阻害により DGK ζ の細胞質移行は認められなくなった。また、細胞外 Ca^{2+} を除去した条件下では、OGD 負荷を行っても DGK ζ の細胞質移行は起こらなかった。以上より、DGK ζ の細胞質移行には NMDA 受容体刺激による細胞外 Ca^{2+} の流入が重要であることが明らかとなった。

また、OGD 負荷時に PKC 活性を阻害すると、一部の海馬錐体細胞において DGK ζ の細胞質移行が阻害され、同時に神経特異的アイソザイムである PKC γ の免疫反応も残存することが明らかとなり、DGK ζ の細胞質移行メカニズムには PKC 活性が関与する可能性が示唆された。

平成 23 年 1 月 14 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 鈴木 祐輔

論文題目：海馬スライスにおける酸素グルコース欠乏負荷条件下での α 型ジアシルグリセロールキナーゼの細胞内局在変化

審査委員：主審査委員

藤井 聡

：副審査委員

大谷 浩一

：副審査委員

中島 修

審査終了日：平成 23 年 1 月 14 日

【論文審査結果要旨】

ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) はジアシルグリセロール (DG) の代謝を介して細胞内情報伝達に重要な役割を果たす。正常な海馬 CA1 ニューロンでは、DGK アイソザイムの一つである DGK α が核内に存在する。一方、無酸素グルコース負荷 (OGD) をかけて脳虚血をシミュレートした状態の CA1 ニューロンでは、DGK α が細胞質に移行する。

本論文は、海馬スライスに OGD を行い、CA1 ニューロンで DGK α の核内から細胞質への移行を免疫組織化学的手法で検討し、DGK α の細胞質への移行が神経細胞死に関与することを検討したものである。本論文では、OGD の条件の詳細を検討して、OGD 負荷時間の閾値を 8 分間としたが、ヒトおよび動物の脳虚血と海馬ニューロンの障害を報告した既存の報告と矛盾がなく、実験計画および手法は適切であると思われる。

本論文では、OGD 負荷による海馬 CA1 ニューロンの細胞死のメカニズムとして、OGD による細胞外グルタミン酸濃度の上昇と NMDA 型グルタミン酸受容体の活性化を挙げている。さらに、NMDA 型受容体の活性化に伴い、細胞外からのカルシウムイオンが 8 分間以上持続して流入すると、Protein kinase C (PKC) を活性化させて DGK α の核内から細胞質へ不可逆的に移行させるという仮説を提示している。

本研究の独創的な点は、脳虚血による神経細胞死のメカニズムで、NMDA 型受容体活性化、PKC 活性化、DGK α の細胞質への移行、という過程を明確にした点であろう。本研究結果は、脳虚血による細胞死の発生メカニズムとその治療法の開発に寄与するものと思われ、その学問的意義のみならず社会的意義が大きい。本審査会は当研究が学位 (医学) の授与に値するものと判定する。