

論文の内容の要旨

氏名：稲原 裕也

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：頭部外傷後の細胞外液中 ATP とグルタミン酸の動向ならびに神経細胞死との関連

近年の研究では、グルタミン酸はニューロンの、ATP はグリア細胞の伝達物質であるという単純な概念ではなく、グリア細胞からもグルタミン酸の放出が認められるなど、これまで考えられていた細胞以外からのさまざまな伝達物質の放出と受容が報告されている。しかし、グルタミン酸と ATP の相互関係や放出の由来についての報告はない。本研究では、グリオトランスミッションにおいて重大な役割を持つ ATP の分解酵素であるアピレースを外傷時に用いた際の細胞外液中のグルタミン酸について検討した。また、細胞外液中のグルタミン酸の変化と細胞死の関連を検討した。さらに、テトロドトキシンを外傷時に用いてニューロンを抑制した際の細胞外液中の ATP を検討した。バイオセンサーを用いた **Stab wound injury** モデルを作製した。バイオセンサーを大脳皮質に挿入することで **Stab** を行った。外傷のみのコントロール群、外傷時にアピレースを投与したアピレース群、テトロドトキシンを投与したテトロドトキシン群を作製した。**Stab** 後の細胞外液中のグルタミン酸と ATP をバイオセンサーを用いて測定した。コントロール群とアピレース群では、モデル作製 3 日、7 日、28 日後に脳検体を用いて、**GFAP** と **CD11b** の **Western blotting** を行った。モデル作製 3 日後の 3 群の脳検体を用いて **Fluoro-Jade** 染色を行い、細胞死の程度を評価した。細胞外液中のグルタミン酸はコントロール群と比較してアピレース群、テトロドトキシン群で有意に低い値を示した。これは、外傷後の細胞外液中のグルタミン酸は ATP を介したシグナル伝達が関与していることを示している。**GFAP** と **CD11b** の発現量はすべての時点においてコントロール群と比較してアピレース群で有意に低い値を示した。これは、アピレースによる抗炎症作用を示している。細胞死の評価では、**Stab** 周囲に **Fluoro-Jade** 陽性細胞を認め、コントロール群と比較してアピレース群とテトロドトキシン群で有意に減少した。以上より、アピレースによって脳損傷を軽減することで得られるグルタミン酸毒性の低減と抗炎症反応が二次性脳損傷治療に寄与するものと考えられた。細胞外液中の ATP ピーク値はコントロール群と比較してアピレース群とテトロドトキシン群で有意に低い値を示した。テトロドトキシン群での ATP ピーク値はコントロール群の 87.3% であり、**Stab wound injury** モデルでは約 13% がニューロン由来であると考えられた。アピレースによる ATP シグナルが抑制された状態での **Stab wound injury** では、細胞外液中のグルタミン酸が抑制され、さらに細胞死も抑制された。