

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	(甲) 乙 第	号	氏 名	篠 塚 崇 徳
論文審査担当者	主 査	薬理学	安 井 正 人	
	生理学	柚 崎 通 介	解剖学	仲 嶋 一 範
	内科学	鈴 木 則 宏		
学力確認担当者：			審査委員長：柚崎 通介	
			試問日：平成26年 6月20日	
(論文審査の要旨)				
論文題名：Astrocytic gap junctional networks suppress cellular damage in an in vitro model of ischemia (アストロサイトのギャップ結合ネットワークはin vitroの虚血モデルにおいて細胞傷害を軽減する)				
<p>脳虚血急性期のアストロサイトについてはグルコース代謝などを介した神経保護作用とglial fibrillary acidic protein の発現に伴う活性酸素誘導などを介した神経傷害作用の相反する指摘がされており未だ全体像は明らかになっていない。本研究では、未だ多くの部分が謎に包まれている虚血時のアストロサイトの細胞生理学的な変化と病態への関与について調べた。まず、酸素グルコース欠乏法によって虚血条件に晒した急性脳スライスにおけるアストロサイトの細胞内カルシウム濃度を2光子励起レーザー走査顕微鏡によって評価した。その結果、虚血条件下での特異的な変化として、細胞ごとに異なるパターンで振動（第1相）した後、一斉に持続的な上昇（第2相）を示すことを観察した。また、パッチクランプ法による神経細胞の膜電位との同時記録を行い、神経細胞の不可逆的な脱分極がアストロサイトの第2相の反応と同時に生じることを明らかにした。更に、アストロサイト間を繋ぐギャップ結合を薬理的に阻害するとアストロサイトの第2相の反応と神経細胞の脱分極が同期したまま、発生するまでの時間が早くなることを明らかにした。以上から、アストロサイトのギャップ結合が、虚血時のアストロサイトの病態生理変化と同時に神経細胞の病態生理変化をも遅延するという結論を得た。</p> <p>審査ではまず、急性脳スライスの調製時に生じる細胞内代謝の低下が実験系へ及ぼす影響について質問された。それに対して、急性脳スライスにおける神経細胞及びアストロサイトの生理学的な特性がin vivoと近いことを示す先行研究から実験系として妥当と考えられるものの、細胞内代謝の変化に関する知見は重要であり今後の課題であると回答された。次に、虚血条件下で生じるアストロサイトと神経細胞の同期した反応の機序とその生じる範囲について質問された。それに対し、大脳皮質視覚野第2/3層における200 µm四方の観察視野内では、全てのアストロサイトにおける細胞内カルシウムの上昇及び神経細胞の脱分極が同期することが観察されたものの、これらの現象の機序と観察範囲外での同期に関する知見は不明であり今後の課題であると回答された。また、酸素グルコース欠乏法下で生じる神経細胞の病態へ関与することが指摘されてきたNMDA型グルタミン酸受容体（NMDAR）などの関与について質問された。これに対し、NMDAR阻害剤存在下でもアストロサイトの細胞内カルシウムの上昇及び神経細胞の脱分極が生じることを確認したものの、その他のチャンネルの関与については不明であり今後の課題であると回答された。</p> <p>以上のように、本研究は今後解明すべき課題を残しているが、アストロサイトのギャップ結合が虚血時における持続的な細胞内カルシウム上昇の発生を遅延させることによって脳虚血急性期の傷害過程を遅延する可能性を示唆した点が高く評価された。</p>				