

氏名	呉 婷
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博甲第 8694 号
学位授与年月	平成 30年 3月 23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	The neuroprotective effect of perampanel in lithium-pilocarpine rat seizure model（ペランパネルのリチウムピロカルピンラットモデルにおける神経保護作用）
主査	筑波大学教授 博士（医学） 櫻井 武
副査	筑波大学教授 博士（医学） 船戸 弘正
副査	筑波大学教授 博士（医学） 小松 洋治
副査	筑波大学講師 博士（医学） 井出 政行

## 論文の内容の要旨

呉婷氏の博士学位論文は、てんかんモデルラットにおけるペランパネルの治療効果および神経保護作用を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

### （背景）

てんかん重積状態（SE）が長引くと、治療薬に対し抵抗性を示すと共に、神経脱落、神経ネットワークの異常、高次機能障害や精神障害を引き起こし、生命に危険を及ぼす。現存の治療法としてまずジアゼパム（DZP）やロラゼパムなどベンゾジアゼピン系抗てんかん薬が使用されている。しかし、SEが長引いても迅速かつ有効に発作抑制できる抗てんかん薬はほぼないため、新規治療手段の探索が必要である。ペランパネル（PER）は非競合 AMPA 受容体拮抗剤で、部分発作（二次性全般化発作を含む）および強直間代発作に対する抗てんかん薬との併用療法が承認されている。著者は以前の研究により、SEが引き起こされてから30分経った状態でも、一回のPER処置で、EEG上の発作を止められることを見出している。この結果からAMPA受容体拮抗剤が難治SEに対して有効である可能性が示唆された。しかし、予後に影響する神経損傷・脱落について、PERの薬物効果がまだ検討されていなかった。本研究で著者は、ヒトSEの臨床及び神経組織的特徴をよく反映するlithium-pilocarpineラットモデルをもちいた検討を行なっている。このモデルにおいて、著者はSEが誘発された後、海馬、梨状皮質、嗅内皮質、扁桃核、視床などの部位において、大きな損傷が観察しており、このラットモデルを用いて、重要な部位である海馬CA1（CA1）、梨状皮質（Pir）、内側背側視床（MD）における神経細胞に対し、PERが保護作用を発揮するか、また保護作用がけいれん抑制作用との関係について検討している。

### （方法）

Lithium chloride と pilocarpine をラットへ投与することによりSEが惹起される。著者は、SEの開始をラットのリアリングと両前肢クローヌス行動(Racine score 4)を伴う連続発作開始時と定義してい

る。SE 開始してから 30 分後、PER (0.6, 2, or 6 mg/kg) または DZP (10 mg/kg) をそれぞれの群のラットに尾静脈投与を行っている。投与してから 30 分後までに行動観察し、その間の痙攣スコアを記録した。薬物処置してから 1 週間後に、薬物投与された動物及び痙攣惹起されていない naïve 動物の病理組織的サンプルを採取し、抗 neuronal nuclei (NeuN) 抗体を用いて免疫染色を行い、pixel-counting algorithm を用いて CA1、Pir と MD におけるシグナルの量的解析を行っている。PER の SE 抑制作用及び神経保護作用との相関を検討している。

#### (結果)

著者は、DZP (10 mg/kg) 投与された動物の SE が抑えられず、Racine score 5 を示したとしている。一方 6 mg/kg PER が投与された動物は、SE が完全に停止し、Racine score 0 を示した。2 mg/kg PER 投与群において、15 例中 7 例は SE が完全に停止し、残りの 8 例中 6 例が Racine score 2 以下まで SE が抑制された。0.6 mg/kg PER 投与群では、SE が抑えられず、全ての動物は Racine score 5 を示した。Naïve を含めて免疫染色を行った結果、DZP 投与群は、CA1、Pir、及び MD の全ての検討場所において、非常にシビアな神経脱落を見出している。一方、PER は用量依存的に神経脱落を防ぎ、6 mg/kg PER 投与群では、Naïve と同等なレベルまで神経保護作用を示した。2 mg/kg PER 投与群の中で SE が止められた動物が、全ての評価場所において、Naïve と同等なレベルまで神経保護作用を発揮することを示した。同群中の SE が止められなかった動物も DZP と比べて有意な神経保護作用を示し、中では MD において Naïve と同等なレベルまで神経保護を観察している。0.6 mg/kg PER 投与された動物は、有意差は見られなかったものの、DZP に比べて神経保護の傾向を示した。PER の SE 抑制作用と神経保護作用の相関をとると、CA1、Pir、と MD の 3 カ所共に相関があったとしている。

#### (考察)

本研究で、著者は DZP 抵抗性を示した SE に対し、PER が強いけいれん抑制作用及び神経保護作用を示すことを見出している。DZP は臨床の SE 治療によく使われるが、痙攣が長引くと、薬物効果の低下が一般的に見られる。それはシナプス後膜上 GABA<sub>A</sub> 受容体の減少に起因する可能性があると考えられている。本研究でも、著者は、DZP 投与による痙攣及び神経脱落への抑制作用は見出していない。

lithium-pilocarpine SE モデルの痙攣持続はグルタミン酸系メカニズム由来と考えられ、神経脱落は SE の痙攣持続に起因し、AMPA 受容体が一連の行動に関与すると言われている。したがって、PER の持続した SE 及び神経脱落に対する強い抑制作用は痙攣持続の抑制に伴う可能性がある。痙攣が残った PER 投与動物に関して、神経保護作用は部位によって強さが異なった。痙攣抑制作用と神経保護作用が相関することもあり、神経保護作用の強さの違いは部位ごとの痙攣抑制効果の違いを反映する可能性がある。CA1 と Pir は辺縁系痙攣の開始部位であり、MD は辺縁系外へ痙攣を伝播するリレー部位である。本研究で見られた MD へのより強い神経保護作用は、PER の痙攣伝播により効果的な特徴を示唆していると著者は指摘している。

#### (結論)

著者は、PER を DZP 抵抗性を示した SE のラットに投与すると、痙攣を停止させることにより脳の重要部位の神経脱落を抑制することを見出している。この神経保護作用は痙攣起始部位である CA1 と Pir より、辺縁系痙攣の伝播に関与する MD に強く、PER の痙攣伝播により効果的な特徴が示唆されたとしている。

## 審査の結果の要旨

#### (批評)

本研究で、著者は DZP 抵抗性を示した SE に対し、PER が強いけいれん抑制作用及び神経保護作用を示すことを見出した。本論文は、PER のてんかん重積発作に対する治療的効果と神経保護作用、およびそのメカニズムの一部を解明した。特に、PER が痙攣を抑制するのみではなく、神経保護作用を有しており、痙攣モデルによる神経脱落を抑制することを病理組織学的検討により明確にした。

平成 29 年 12 月 21 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。