

氏名（本籍）	高橋 利英（千葉県）		
学位の種類	博士（ 医学 ）		
学位記番号	博甲第	9634	号
学位授与年月	令和 2 年 4 月 30 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	Novel neuroprotection using anti-oxidant nanomedicine for head trauma in mice (マウス頭部外傷モデルにおける新規の抗酸化ナノメディシンを用いた脳保護効果)		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	井上 貴昭
副査	筑波大学講師	博士（医学）	鎌田 浩史
副査	筑波大学講師	博士（医学）	大川 敬子
副査	筑波大学講師	博士（医学）	富所 康志

論文の内容の要旨

高橋利英氏の博士学位論文は、マウス頭部外傷モデルに対して、損傷された脳細胞への選択的作用を高めた抗酸化ナノメディシンである Redox-active nitroxide radical-containing nanoparticles (RNP) を用いて、損傷脳に対する神経保護効果について、生理学的及び神経病理学的に検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

【目的】 著者は、未だ明らかに解明されていない頭部外傷後の二次的脳損傷の発症機序について、増悪因子となるフリーラジカル・活性酸素に着目してきた。しかし、先行研究ではフリーラジカルスカベンジャーは正常細胞に対する毒性も強く、病態に対する至適量が定まっていないため頭部外傷に対する臨床適応には至っていないことを著者は問題視してきた。本研究において著者は、長崎研究室(筑波大学物質工学系)が開発したニトロキシラジカル含有ナノ粒子 (Redox-active nitroxide radical-containing nanoparticles : RNP) はフリーラジカルスカベンジャーである 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPO) をミセル化した新規の抗酸化ナノメディシンに着目した。本物質は従来のフリーラジカルスカベンジャーよりも毒性が弱く、脳損傷部に選択的に作用すると考えられている。著者は、頭部外傷モデルマウスを作成し、本モデルに RNP を投与し、神経学的行動および脳挫傷組織像の評価を行うことで同物質の神経保護効果を検証することを本研究の目的とした。

【対象と方法】 著者はまず頭部に重りを自由落下させることで頭部外傷モデルマウスを作成した。著者は外傷直後に RNP を 3mg/kg 尾静脈注射し、受傷 1、3、5 日後に同量を腹腔内注射をしている。また、著者は対照群として PBS 群、TEMPO 群、及び Micelle 群も作成した。著者は認知行動評価を Neurological severity score およびローターロッドテストにて評価し、さらに受傷 7 日後の脳挫傷体

積を測定して神経保護効果を評価した。また、著者は蛍光免疫染色によりアストロサイト・神経細胞・ミクログリアの動態を評価し、電子スピン共鳴法により挫傷脳の活性酸素消去活性も測定した。

【結果】 著者は、RNP 群では他群と比較して有意に認知行動評価が良好であり、脳挫傷体積も有意に縮小していることを明らかにした。また、著者は受傷7日後の蛍光免疫染色では、RNP 群の脳挫傷周囲において有意にアストロサイトが集簇しており、神経細胞の脱落も抑制されていることを組織学的に証明した。更に著者は、ミクログリア全体の集簇については受傷1、3、7日後いずれもRNP 群と他群に有意差が認められないことを明らかにした。しかし、神経破壊型ミクログリアは受傷1、3日後においてPBS 群、Micelle 群よりもRNP 群は有意に増殖を抑制できており、神経保護型ミクログリアは受傷7日後においてRNP 群は他群よりも有意に増殖されていることを著者は明らかにしている。加えて、著者は、挫傷脳の活性酸素消去活性について、受傷1日後においてRNP 群は他群よりも有意にスーパーオキシドアニオンの捕捉能が改善されていることを明らかにした。

【考察】 著者は、本研究を通して、RNP 投与によりマウス頭部外傷モデルの認知行動評価は改善し、挫傷体積も縮小したことを示した。また、著者は活性酸素消去活性については、スーパーオキシドアニオンの捕捉能が改善されたが、これによりラジカル連鎖反応が抑制されて他の活性酸素の産生が抑えられた可能性があることを考察している。著者は、頭部外傷後に産生されるミクログリアについて、RNP 投与により神経破壊型ミクログリアの産生が抑制され、神経保護型ミクログリアの産生が促進されていたことから、ミクログリアの極性反転がスーパーオキシドアニオンの捕捉能改善や認知行動評価改善等の神経保護効果に関与した可能性を論じている。

【結語】 著者は、マウス頭部外傷モデルに対してTEMPOをミセル化した新規の抗酸化ナノメディシンであるRNP投与をすることにより、認知行動が改善し、脳挫傷体積を減少させ、神経破壊型ミクログリアを抑制し、神経保護型ミクログリアを産生することによって、脳挫傷後の神経保護効果があることを報告した。更に著者は、未だ生命学的・神経学的予後が不良である頭部外傷における二次的脳損傷に対して、RNPが有用な抗酸化ナノメディシンとして臨床応用される可能性があることを示した。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究は、交通外傷など、外傷患者の生命予後及び機能予後に大きな影響を及ぼす頭部外傷に着目し、損傷脳への選択的作用性を高めたフリーラジカルスカベンジャーであるRNPの効果について、マウス頭部外傷モデルを用い、認知行動及び、挫傷体積縮小作用を生理学的に検討し、神経ミクログリア細胞の再生及び細胞保護効果を病理学的に証明した研究である。頭部外傷の増悪因子となる2次的脳損傷を抑制するためのトランスレーショナルメディシンの可能性に富む良研究であり、今後の発展性が大いに期待できる。

令和2年3月4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。