

Title	Protective effect of NGF atelocollagen mini-pellet on the hippocampal delayed neuronal death in gerbils
Author(s)	山本, 聡
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41098
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	山本 聡
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 14034 号
学位授与年月日	平成 10 年 4 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Protective effect of NGF atelocollagen mini-pellet on the hippocampal delayed neuronal death in gerbils (薬剤徐放性デリバリーシステムを用いた神経栄養因子による海馬遅発性神経細胞死防止効果の研究)
論文審査委員	(主査) 教授 早川 徹 教授 門田 守人 (副査) 教授 柳原 武彦 教授 遠山 正彌

論文内容の要旨

[目的]

神経成長因子 (NGF) は交感神経節細胞の変性防止やコリン作動性神経細胞の生長促進作用を示すことから虚血などの侵襲に対する神経保護効果が期待される。本研究では一定量の NGF を持続的に脳内に供給できる植え込み型の NGF コントロールデリバリーシステムを開発するとともに、これを用いて一過性脳虚血後の遅発性神経細胞死に対する NGF の防御効果を検討した。

[方法ならびに成績]

NGF の担体として仔牛真皮由来の高純度アテロコラーゲンを用いた。製造工程に有機溶媒や加熱、加圧などを必要としない成形加工技術により、長さ 2 mm、直径 0.5 mm のミニペレットにマウス顎下腺より抽出した NGF 20 μ g を添加して NGF ミニペレットを作成した。また NGF を含まないプラセボミニペレットを用意した。ケタラール腹腔内注入により砂ネズミを麻酔し、頭部を定位脳手術装置に固定して左背側海馬に NGF ミニペレット (NGF 群, n=6) あるいはプラセボミニペレット (プラセボ群, n=5) を植え込んだ。この 24 時間後にエーテル麻酔下に直腸温をモニターしつつ両側総頸動脈を 10 分間閉塞し、一過性前脳虚血を加えた。4 日後に動物を断頭し、パラフィン包埋後両側背側海馬を含む 6 μ m 厚の冠状断脳切片を作成し、HE 染色にて海馬 CA1 領域の中央 1200 μ m の残存神経細胞数を計測した。また NGF ミニペレットあるいはプラセボミニペレットを植え込んだ後、6 時間、1 日、3 日、あるいは 5 日目に動物を断頭し、脳を摘出して海馬の NGF 濃度を EIA 法により測定した。

一過性脳虚血 4 日後の組織学的検討では NGF 群は植え込み側および対側いずれの海馬でも錐体細胞層のほとんどの神経細胞が残存していた (それぞれ 142.7 ± 4.7 および 148.0 ± 17.5 個/mm)。これに対しプラセボ群では植え込み側では多数の神経細胞が残存していたが対側では少数が残存するのみであった (それぞれ 107.4 ± 24.7 および 49.8 ± 21.6 個/mm)。NGF 群の対側海馬の残存神経細胞数はプラセボ群に比し統計学的に有意に増加していた ($p < 0.01$)。海馬内 NGF 濃度は NGF ミニペレット植え込み 6 時間後には高値を示し (31.8 ng/g) たが、3 日後に最高値に達し (72.7 ng/g)、5 日後まで高値 (42.9 ng/g) を維持した。対側でも挿入 6 時間後には 21.1 ng/g と高値を示し、1 日後に最高

値に達し (28.3 ng/g), 3日後 (17.6 ng/g), 5日後 (9.1 ng/g) も高値が持続した。プラセボミニペレット植え込み後の海馬内 NGF 濃度は植え込み側, 対側とも正常海馬の値 (0.19 ± 0.06 ng/g) に比べ僅かに高値を示すのみであった (それぞれ 0.4-1.1 ng/g および 0.3-2.5 ng/g)。以上の結果より NGF ミニペレットの植え込みにより対側海馬錐体細胞の遅発性神経細胞死は有意に抑制され, これは組織中の NGF 濃度が高値に維持されたことと関連することが示唆された。なお同側海馬における遅発性神経細胞死の抑制効果は単に NGF 濃度だけでなく, ミニペレット植え込み自身による影響も考えられる。

[総括]

- 1) 開発した薬剤コントロールデリバリーシステム (ペレット) を用いることにより海馬内 NGF 濃度を数日間にわたり高濃度に保つことが可能であることが明らかとなった。
- 2) 開発したこのシステムを用いることにより一過性脳虚血後の海馬錐体細胞層にみられる遅発性神経細胞死を阻止できることが示された。
- 3) 本薬剤デリバリーシステムを用いた神経栄養因子による脳損傷の治療の可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

神経栄養因子は神経細胞の生存維持や生長促進, およびある種の変性を防止する効果が認められているが, 本研究は虚血性神経細胞障害, とくにその中でも一過性虚血後緩徐に神経細胞死が進む海馬の遅発性神経細胞死に対し, その防止効果の有無を検討したものである。そのため神経成長因子 (NGF) を封入したミニペレットを開発し, これを砂ネズミの一侧海馬に植え込み, その後一過性の前脳虚血を負荷した。その結果ミニペレット植え込み側はもとより対側の海馬においても遅発性神経細胞死がある程度防止できることが明らかになった。そこで特に対側海馬でも神経細胞死を防止できたことに注目し, これが投与した NGF の効果か否かを検証するため, ミニペレット植え込み後の海馬内 NGF 濃度を測定し, 数日間にわたり高濃度が維持されることを明らかにした。プラセボミニペレットの植え込みでは NGF 濃度は上昇せず, 神経細胞死防止効果も認められなかった。

本研究は脳内 NGF 濃度を有効に保つことのできる投与システムを開発し, それにより NGF が海馬の遅発性神経細胞死の防止効果を有することを明らかにした貴重な研究であり学位に値すると考えられる。