

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第404号	氏名	岡成和夫
審査委員会委員	主査氏名	伊東 瓦村 (伊東) 印	
	副査氏名	木村 成志	
	副査氏名	春 嶋 名 (春)	
論文題目			
<p>Behavioral and neurotransmitter changes on antiepileptic drugs treatment in the zebrafish pentylenetetrazol-induced seizure model (ゼブラフィッシュを用いたペンチレンテトラゾール誘発発作モデルにおける抗てんかん薬投与による行動と神経伝達物質の変化)</p>			
論文掲載雑誌名			
Behavioural Brain Research			
論文要旨			
<p>【目的】 てんかんは、脳内の神経伝達物質の動態異常が関与する反復発作が特徴の神経疾患であり、世界的な健康問題がある。てんかん発作のメカニズムには、興奮性神経伝達物質と抑制性神経伝達物質の相対的な不均衡が関与していると考えられている。しかし、てんかんの病態に関する臨床的・基礎的研究が進展しているにもかかわらず、てんかん発作時の抗てんかん薬 (AED) の有無による神経伝達物質の変化と行動の関係は依然として不明である。そこで、ペンチレンテトラゾール (PTZ) 誘発発作において、AED の行動試験と神経伝達物質の関連を検討した。</p> <p>【方法】 成魚のゼブラフィッシュを用いた PTZ 誘発発作において、レベチラセタム (LEV)、カルバマゼピン (CBZ)、フェンフルラミン (FFR) の3種類の AED による行動変化と、次に示す10種類の神経伝達物質の脳内濃度を調べた。神経伝達物質はグルタミン酸、γ-アミノ酪酸 (GABA)、セロトニン (5-HT)、5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-HIAA)、コリン、アセチルコリン、ノルエピネフリン、ドーパミン (DA)、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸 (DOPAC)、アデノシンとした。</p> <p>【結果】 PTZ 誘発発作の直後に脳内の 5-HT と DA レベルが上昇することが観察された。行動試験により、これらすべての AED が PTZ 誘発発作を抑制することが明らかとなった。PTZ 誘発発作をこれら AED で治療すると、CBZ はグルタミン酸レベルを低下させ、FFR は GABA レベルを上昇させたが、LEV 投与後は神経伝達物質の変化は観察されなかった。</p> <p>【考察】 AED は、脳内のさまざまな種類の神経伝達物質シグナル伝達と「興奮-抑制」のバランスを調節する。今回の研究ではゼブラフィッシュにおける PTZ 誘発発作では、セロトニン作動性およびドーパミン作動性システムの機能不全が示唆された。また、CBZ は電位依存性ナトリウムチャネルをブロックし、LEV は synaptic vesicle glycoprotein 2A に結合し、FFR は 5-HT 再取り込みを阻害することで、神経終末で神経伝達物質を調節している。本研究では CBZ、LEV、FFR の3種類の AED は全てゼブラフィッシュの PTZ 誘発発作を抑制したが、CBZ はグルタミン酸レベルを減少させ、FFR は GABA レベルを増加させ、LEV は PTZ 誘発発作条件下でどの神経伝達物質レベルも変化させないという異なる神経伝達物質の変化を示した。</p> <p>本研究は、PTZ 誘発発作条件下における3つの AED (LEV、CBZ、FFR) が、神経伝達物質の異なる変化をはじめて示したもので、これら知見により、てんかん発作の病態生理学的解明に貢献するものである。</p> <p>このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

~~最終試験~~
の結果の要旨
学力の確認

審査区分 課・ 	第404号	氏名	岡成和夫
審査委員会委員	主査氏名	伊東弘樹  印	
	副査氏名	木村成志 	
	副査氏名	秦暢気 	

学位申請者は本論文の公开发表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。

1. 薬物療法に抵抗性があるてんかん患者の治療は、どのようなものがあるか。
2. てんかんの薬物療法において、薬剤の単剤と併用はどのように決定するか。
3. てんかんと各モノアミンの関連について、説明してください。
4. 抗てんかん薬は多くの種類があるが、今回選択した3剤に絞って検討を行った理由は何か。
5. げっ歯類の場合、昼夜サイクルがヒトと逆転しているが、ゼブラフィッシュの場合はどうか。
6. 今回使用した薬剤の投与量は、どのように決定したか。
7. 薬剤の投与方法として、腹腔内投与を選択した理由は何か。
8. てんかんを誘導して10分待機してから sacrifice を行うというデザインにした理由は何か。
9. 神経伝達物質を質量分析で解析した理由は何か。
10. コントロールに DMSO を投与しているが、結果に影響はないか。
11. ペンチレンテトラゾール以外のモデルでは結果に違いが生じるか。
12. 結果にバラツキが生じた理由は何か。
13. 神経伝達物質濃度を1ポイントで評価しているが、複数ポイントで評価した場合、結果に影響がでるか。
14. てんかん発作期と間欠期で、モノアミン濃度に違いが生じるか。
15. レバチラセタム投与では、どのような神経伝達物質に影響していると考えているか。
16. レバチラセタムでは精神症状を生じることがあるが、アセチルコリンに変化がなかったか。
17. レバチラセタムだけ有意な結果が得られなかったが、発作抑制が十分に得られない用量で行われた可能性があるか。

これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 岡成 和夫

論 文 題 目

Behavioral and neurotransmitter changes on antiepileptic drugs treatment in the zebrafish pentylenetetrazol-induced seizure model

(ゼブラフィッシュを用いたペンチレンテトラゾール誘発発作モデルにおける抗てんかん薬投与による行動と神経伝達物質の変化)

要 旨

【緒言】

てんかんは、脳内の神経伝達物質の動態異常が関与する反復する発作を特徴とする神経疾患であり、世界的な健康問題である。てんかん発作のメカニズムには、興奮性神経伝達物質と抑制性神経伝達物質の相対的な不均衡が関与していると考えられている。近年、てんかんの病態に関する臨床的・基礎的研究が進展しているにもかかわらず、てんかん発作時の抗てんかん薬 (AED) の有無による神経伝達物質の変化と行動の関係は依然として不明である。

【研究対象及び方法】

成魚のゼブラフィッシュを用いたペンチレンテトラゾール (PTZ) 誘発発作において、レベチラセタム (LEV)、カルバマゼピン (CBZ)、フェンフルラミン (FFR) の AED が主要な神経伝達物質に及ぼす影響を調べる。神経伝達物質はグルタミン酸、 γ -アミノ酪酸 (GABA)、セロトニン (5-HT)、5-HTD

ロキシインドール酢酸 (5-HIAA)、コリン、アセチルコリン、ノルエピネフリン、ドーパミン (DA)、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸 (DOPAC)、アデノシンの 10 種類の変化を調べた。

【結果】

この研究では、PTZ 誘発発作の直後に脳内の 5-HT と DA レベルが上昇することが観察された。行動試験により、これらすべての AED が PTZ 誘発発作を抑制することが明らかになった。PTZ 誘発発作をこれらの AED で治療すると、CBZ はグルタミン酸レベルを低下させ、FFR は GABA レベルを上昇させたが、LEV 投与後の脳では神経伝達物質の変化は観察されなかった。LEV、CBZ、FFR の投与により、PTZ 誘発てんかん発作時の行動変化に関連した一連の神経伝達物質の変化が示された。

【考察】

AED は、脳内のさまざまな種類の神経伝達物質シグナル伝達と「興奮-抑制」のバランスを調節する。今回の研究ではゼブラフィッシュにおける PTZ 誘発発作では、セロトニン作動性およびドーパミン作動性システムの機能不全が示唆された。また、CBZ は電位依存性ナトリウムチャンネルをブロックし、LEV は synaptic vesicle glycoprotein 2A (SV2A) に結合し、FFR は 5-HT 再取り込みを阻害することで、神経終末で神経伝達物質を調節している。本研究では CBZ、LEV、FFR の 3 種類の抗てんかん薬は一樣にゼブラフィッシュの PTZ 誘発発作を抑制したが、CBZ はグルタミン酸を減少させ、FFR は GABA レベルを増加させ、LEV は PTZ 誘発発作条件下でどの神経伝達物質レベルも変化させなかったという異なる神経伝達物質の変化を示した。

【結語】

PTZ 誘発発作条件下における LEV、CBZ、FFR などの AED のそれぞれ異なる神経伝達物質変化を同定した。これらの知見は、てんかん発作の病態生理学的側面のより良い理解に貢献するものである。