

審査の結果の要旨

氏名 本多 正幸

本研究は認知症とカルニチンの関連について、(I) 基礎的検討、および (II) 臨床的検討を行っている。(I) マウス神経芽腫由来培養細胞 Neuro-2a を用いた系において、脂質代謝に必須であるカルニチンの脂肪酸エステルであるアシルカルニチンの作用および神経細胞死を誘導する分子メカニズムを明らかにし、(II) 認知症精査入院患者において血清カルニチン分画を測定し、認知機能と関連する指標を探索したものであり、下記の結果を得ている。

(I) 基礎的検討

1. アシルカルニチンの神経系細胞障害性

長鎖アシルカルニチンの一種である C18 カルニチンは濃度依存的に MTS assay で示される細胞生存率を低下、LDH assay で示される細胞毒性を上昇させ、長鎖ほどより低濃度で強い細胞障害性を示した。一方で C0 カルニチン、短鎖・中鎖アシルカルニチンは細胞障害性を示さなかった。

2. アシルカルニチン分画によるアポトーシスの誘導

長鎖アシルカルニチンにより、DNA fragmentation (ELISA) で示されるアポトーシスが誘導された。一方で C0 カルニチン、短鎖・中鎖アシルカルニチンはアポトーシスの誘導が示されなかった。

3. C18 カルニチンによる細胞内シグナルの変化

C18 カルニチンの Neuro-2a 細胞毒性に関与する細胞内シグナルについて、Western blotting を用いた検討では、p38, JNK のリン酸化が亢進した。短鎖および中鎖カルニチン投与ではこれらのリン酸化に変化は示されなかった。

4. MAPK 阻害剤を用いた検討

p38 および JNK 阻害剤添加による検討では p38 阻害薬の投与により C18 カルニチンによる 1) MTS, LDH アッセイで示される細胞障害、2) アポトーシスが部分的に抑制された。一方、JNK 阻害薬では 1), 2) の抑制効果が認められなかったことから、C18 カルニチンによる細胞障害およびアポトーシスの誘導に p38 のリン酸化が関与することが示唆された。

5. C18 カルニチンによる細胞内 ROS 産生

DCFH-DA アッセイを用いた系において、長鎖アシルカルニチンによって細胞内 Reactive oxygen species (ROS) 産生が増加することが示されたが、細胞死への関与については今後の検討が必要と考えられた。

(II) 臨床的検討

認知症精査目的に入院した患者のうち同意の得られた 116 名から AD, 軽度認知機能障害 (MCI), 健常群を抽出し、血清中のカルニチン分画 (総カルニチン, アシルカルニチン, 遊離カルニチン) を測定し、改訂版長谷川式簡易知能スケール (HDS-R), Mini Mental State Examination (MMSE) との関連を検討した。また、一部の患者血清を用いて、アシルカルニチン分画をタンデムマス解析にて測定委託した。その結果、血清カルニチン, アシルカルニチン単独では認知機能との間で相関を認めなかったが、血清アシルカルニチン/C0 カルニチン濃度比と HDS-R, および MMSE との間で統計学的に有意な負の相関が認められた。タンデムマス解析の結果からは認知機能と長鎖アシルカルニチン値との間に有意差は認められなかった。また、認知機能別の 2 群間比較においても、アシルカルニチン/C0 カルニチン比は有意差がなかった。血清アシルカルニチン/C0 カルニチン濃度比の、認知症や認知機能低下に対する予測・関連因子としての意義は、今後縦断的検討を含めた調査が必要とおもわれる。

以上、本論文はマウス神経芽腫由来腫瘍細胞 Neuro-2a において、カルニチン分画の中でもアシルカルニチンは長鎖分画において細胞障害性が強く、アポトーシス誘導を介して濃度依存的に細胞死を来し、その経路に p38 が関与している可能性が高いことを明らかにした。臨床的検討においては認知機能と相関する指標の候補としてアシルカルニチン/C0 カルニチン比が検出されたが、臨床的な有用性については今後の検討が期待される。今まで既報のなかった長鎖アシルカルニチンの神経系細胞への作用解明に新しい貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。