

審査の結果の要旨

獣医学専攻

平成 26 年度博士課程入学

氏名 Ryu Youngjae (リュウ ヨンジェ)

指導教員 西村亮平

論文題目

Physical training regulates the serotonin 2A receptor sensitivity of neuronal cells in the central nervous system and contributes to alleviation of spasticity after spinal cord injury (運動は中枢神経系における神経細胞のセロトニン 2A 受容体感受性を調節し、脊髄損傷後痙縮の改善に寄与する)

痙縮は、脊髄損傷後に起こる脊髄反射の異常亢進により不随意な筋収縮が頻発し、患者の QOL 低下を招く。その病態として、損傷部位より下位脊髄の運動ニューロンにおける 5-HT に対する感受性亢進や 5-HT 受容体の過剰発現の関与が報告されている。運動療法は痙縮に対する有効な治療法であるが、治療効果が得られるメカニズムを明らかにすることは、運動療法の利点を明確にし、より効果的なリハビリテーションの確立につながると期待される。本研究では、脊髄損傷後の運動療法が脊髄運動ニューロンの 5-HT 感受性を調節することにより、症状の改善をもたらすという仮説を立て、その検証を目的に実験を行った。

まず、第 2 章では、痙縮の重症度を定量可能な評価系の開発を行った。ラットに胸髄挫傷モデルを作製し、損傷後 3 週日以降に Swimming test を実施した。痙縮症状とみられる後肢筋の異常収縮を肉眼および電気生理学的に確認し、10 回の Swimming test 中の痙縮発生頻度を解析した。その結果、個体間で発生頻度にばらつきがみられたが、4 回以上の個体を spasticity strong 群、3 回以下を spasticity weak 群として分類し、両群の脊髄反射亢進レベルを H-reflex テストにより解析したところ、strong 群は weak 群に比べ有意に反射が亢進しており、Swimming test により痙縮の重症度を評価可能と考えられた。また損傷部より下位脊髄の運動ニューロンにおいて、Spasticity strong 群は weak 群と比較して 5-HT_{2A} 受容体の有意に高い発現を認めた。

第 3 章では、脊髄損傷後に運動療法としてトレッドミルトレーニング (TMT) を適用し、痙縮の改善および、脊髄運動ニューロンにおける 5-HT 受容体の発現に与える影響を検討した。また、5-HT 受容体拮抗薬および 5-HT 再取り込み阻害薬 (SSRI) 投与を併用し、相加・相乗的効果が得られるかについても検討した。その結果、TMT により痙縮改善効果が得られたが、薬剤による相加的・相乗的効果は得られなかった。また、TMT により、脊髄損傷部より下位の脊髄運動ニューロンにおいて 5-HT_{2A} 受容体の発現亢進が抑制され、5-HT_{2A} 受容体の細胞質内への内在化が観察された。したがって、運動療法が痙縮の改善に働くメカニズムとして、運動ニューロンの 5-HT 発現を調節することが考えられ、その調節に 5-HT 受容体の内在化が関与することが示唆された。

第4章では、運動がニューロンの5-HT受容体の感受性調節に働くメカニズムを、運動により発生するメカニカルストレスに着目して検討した。まず、第3章で実施したTMTにおける頭部の上下運動の動きを機械的に再現した(Passive Head Motion; PHM)。マウスにTMTあるいはPHMを行った後、5-HT受容体作動薬である5-HTPを投与し、前頭前野における5-HT_{2A}受容体の活性化により誘発されるHead Twitch Response (HTR)の発生頻度を評価した。その結果、TMTおよびPHMによりHTRの発生が抑制された。また、TMTおよびPHM後、前頭前野におけるニューロンの5-HT_{2A}受容体の内在化を認めた。次に、ラットを用いてPHMによる頭部へのメカニカルストレスが脳実質内の間質液を介して発生させるFluid Shear Stress (FSS)を計測したところ、前頭前野におけるFSSは0.6-3.6Paであった。この数値に基づき、5-HT_{2A}受容体を過剰発現させたNeuro2A細胞に2.0PaのFSSを加えたところ、5-HT_{2A}受容体の細胞質への内在化が誘導され、内在化がみられた細胞は5-HTに対する感受性が低下した。さらに、FSSにより細胞内PKC γ の活性化がみられ、PKC阻害薬の添加により、FSSによる5-HT_{2A}受容体の内在化が抑制された。また、マウスにPKC阻害薬投与した後にPHMを行ったところ、HTRの抑制効果が減弱した。以上から、運動により発生するメカニカルストレスが脳内でFSSを発生させ、FSSがニューロンのPKC活性を介した5-HT受容体の内在化を誘導し、5-HTに対する感受性を調節すると考えられた。

以上、本研究は、痙縮に対する運動療法の有効性を独自に開発した評価系を用いて明らかにし、さらにそのメカニズムをメカニカルストレスという新たな観点から探索し、運動により生じるFSSが中枢神経系のニューロンにおける5-HT感受性の調節に働くことを明らかにした。この成果は、中枢神経疾患に対する運動療法の新たな利点を見出すものであり、リハビリテーション医学の発展に貢献するところが大きい。よって審査員一同は、本論文が博士(獣医学)論文として価値あるものと認めた。