

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 阿部 弘基

横浜市立大学大学院医学研究科 生理学

審 査 員

主査 横浜市立大学大学院医学研究科脳神経外科学教授 山本 哲哉

副査 横浜市立大学大学院医学研究科神経解剖学教授 船越 健悟

副査 横浜市立大学大学院医学研究科分子細胞生物学教授 高橋 秀尚

博士の学位論文審査結果の要旨

CRMP2-binding compound, edonerpic maleate accelerates motor function recovery from brain injury

(CRMP2 に結合する低分子化合物 edonerpic maleate の脳損傷後運動機能回復促進作用)

本論文は、低分子化合物 edonerpic maleate が、げっ歯類大脳皮質凍結損傷モデルおよび非ヒト霊長類内包出血モデルの運動機能をリハビリテーション依存的に回復させる効果を持つことを、行動実験の結果を示した。また、上記化合物が CRMP2 と結合することを質量分析装置による実験結果、行動実験および電気生理学的実験の結果を示して報告した。さらに上記化合物が、chemical LTP を誘導した状況において cofilin の活性化を促進することを生化学実験の結果を用いて報告した。これらの実験結果は、低分子化合物 edonerpic maleate が CRMP2 と結合しプレシナプスからポストシナプスへの入力が存在する条件下で cofilin の活性化を介して AMPA 受容体のシナプス移行を促進することを示しており、リハビリテーション促進作用の新しい機構といえる。これらのことから申請者は edonerpic maleate がヒト脳卒中患者のリハビリテーションを促進する可能性がある、と結論し、また、これまでリハビリテーションの神経生理学的基盤は、損傷を免れた脳領域の機能的再構成であると考えられてきたが、この分子機構に AMPA 受容体のシナプス移行が関与する可能性を提示した。

本論文は high impact の欧文誌に掲載された(Scinence 360, 50-57, 2018)内容であり、研究および論文作成において申請者は全般的に関与・貢献している。当該研究領域における俯瞰的理解については審査での質疑応答から、また提出された論文の内容からみて問題ない。質疑応答の概要を以下に示す。

最初に高橋副査から「報告では edonerpic maleate が CRMP2 と結合してその下流にあると考えられる cofilin の活性化を介して AMPA 受容体シナプス移行を促進する、としたがこの薬剤の CRMP2 との結合部位に関して知見はあるか？また、edonerpic が結合することによって CRMP2 がどのように構造を変えるのか。」と質問があった。申請者はこの質問に対して、「CRMP2 が 4 量体を形成することに着目をした。in silico での検討では CRMP2 が 4 量体を形成するすきまに edonerpic が結合する部位の存在が示唆されている。また、edonerpic が CRMP2 の多量体⇌単量体の平行関係を変える可能性があると考えている。」と回答した。次に、高橋副査から「edonerpic は CRMP2 を活性化することで AMPA 受容体のシナプス移行を促進しているのか。」と質問があった。申請者はこの質問に対して、「CRMP2 はプレシナプスにおける Ca チャネルの移送に関わっており、それと同じような機構がポストシナプスにおいても行われていて AMPA 受容体のシナプス移行を促進している可能性がある。これまでの検討では edonerpic の投与によって

直接 CRMP2 と AMPA 受容体が結合するということではなさそうである。」と回答した。さらに、高橋副査から「脳損傷後の炎症反応についてはどのように考えているか。」と質問があった。「本研究で用いた Cryo injury でもミクログリアの活性化がある、といった先行研究もあるが本研究では損傷から時間をおいて薬効を検討しているため、炎症が治まった段階での変化をみていた可能性がある。リハビリテーションの効果を検討したのは損傷後 3 週間が経過した段階からである。」と回答した。

船越副査から「リハビリテーション依存的な AMPA 受容体のシナプス移行と従来バレル皮質で示されてきた経験依存的な AMPA 受容体のシナプス移行は本質的に同じであるか。」と質問があった。申請者はこの質問に対して、「恐怖学習の実験系で示されてきたような変化が、脳損傷後にも起きている可能性がありシナプスの入力に応じて回路が再編される。」と回答した。さらに続けて「シナプスへの入力の変化が前提にあるのか。」と質問を受け申請者は「Nudo が示したような損傷周辺の機能的再構成は入力の変化がなければ説明できない。」と回答した。次に、船越副査から「報告で示された edonerpipic による変化は LTP が前提となっているのか。」と質問があった。この質問に対して申請者は「回復の最初の段階では機能的なシナプスの形成には LTP が重要と考えられるが、それ移行はよりシャープな入力への切り替えが起きる可能性があっても必ずしも LTP だけでは説明できない。」と回答した。さらに「機能的再構成というのは運動野があらたに形成されるという概念のようであるが、edonerpipic もこの機能的再構成に関係しているのか。」と質問があった。この質問に対して申請者は「大脳皮質の錐体細胞はある刺激強度では手を動かさしめるし、別の刺激では強度では足を動かさしめる、といった性質を持っている。また手を動かす錐体細胞には強い入力と弱い入力が存在している。強い入力を担っていた錐体細胞が失われれば、弱い入力が強い入力となり手を動かすようになる。こうした変化を edonerpipic が促している可能性がある。軸索が伸びていくといった変化はデータを示していないが起きなかった。」と回答した。

山本主査から「AMPA 受容体の変化は損傷の隣接領域だけでなく離れた正常な領域でも起きているのか。」と質問があった。申請者はこの質問に対して「頸髄損傷や脳損傷後の脳機能の変化はこれまで fMRI で示されてきた。これらの先行研究では損傷後は大脳皮質や基底核の多領域に血流変化をみるが最終的に損傷周辺に局限した血流変化をみるようになる。この報告に基づけば、AMPA 受容体も回復のフェーズによって、最初は小脳や基底核を中心に増えるかもしれないが最終的には損傷周辺や損傷側の運動関連量野を中心とした変化になると考えられる。」と回答した。続けて山本主査から「運動にもともと関与していない回路が回復に関わるようになるのか」と質問があった。この質問に対して申請者は「小脳や基底核を介した回路が中心となって運動機能の回復が起きていく可能性がある。」と回答した。

さらに「この薬剤はすでに安全性が確認された薬剤であるが、治験を組む上でプロトコールはどのようにすべきか」と質問があった。この質問に対して申請者は「edonerpipic

の治験においては、自然な回復のプロセスを経ない患者群を見だし、重篤な麻痺の患者を対象とすることが重要である。CI 療法は国際的に高いエビデンスを得ている治療法であるが CI 療法の臨床研究の中でも重篤な麻痺の患者を対象としており同様の麻痺のレベルの患者であれば自然回復が起きないことが推察される。」と回答した。最後に「サルの実験では手指巧緻性が回復していたが、感覚障害があると回復が難しいように思う。実験を観察していて感覚障害の関与はどれほどであったか。」と質問があった。この質問に対して申請者は「体重が減少するといったストレス反応がみられなかったからサルの感覚障害はなかったように考えている。」と回答した。

全体として、研究に対し真摯に取り組んでおり、基礎的知識や論理的な思考も備えていて、今後、学位取得者として研究の推進、後進の指導も十分可能と思われる。規定の審査基準を満たしており、医学博士の学位に値すると判定された。 以上。