

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：藤田 直輝

専攻分野：分子神経科学

指導教授：北岡 康史

主論文の題目：

Pemafibrate Prevents Retinal Neuronal Cell Death in NMDA-induced Excitotoxicity via Inhibition of p-c-Jun Expression

(ペマフィブラートによる p-c-Jun 抑制を介した NMDA 誘発網膜神経節細胞死に対する神経保護効果)

共著者：

Kana Sase, Chihiro Tsukahara, Ibuki Arizono, Hitoshi Takagi, Yasushi Kitaoka

緒言

NMDA (N-methyl-D-aspartate) はアポトーシスを誘発し神経細胞死に強く関与することが知られており、神経細胞死モデルとして様々な研究に用いられている。一方、ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α (PPAR α) アゴニストであるフェノフィブラートを用いた大規模な臨床研究で糖尿病網膜症の進行抑制効果が報告されている。一方、ペマフィブラートは PPAR α 選択的モジュレーター (SPPARM α) として開発され、高脂血症治療薬として使用されている。ペマフィブラートはフェノフィブラートと比較して安全性が高く、PPAR α に対する選択性が高いとの報告がある。c-Jun は AP-1 群に属する転写因子であり、リン酸化され phospho-c-Jun (p-c-Jun) となってアポトーシス関連遺伝子の発現に関

与する。今回我々は NMDA 誘発網膜神経節細胞 (retinal ganglion cell:RGC) 死モデルラットにおけるペマフィブラート内服による p-c-Jun への影響及び神経保護効果について検討した。

方法・対象

8 週齢雄性ラットの中脳上丘に Fluoro Gold を含んだスポンジを留置し、逆行性に RGC を染色した。その翌日から 1 週間、ペマフィブラート 2.5mg を 1 日 1 回経口投与した。内服開始翌日に NMDA を左眼に、phosphate-buffered saline を右眼にそれぞれ硝子体内投与し、硝子体内注射 1 週間後に眼球摘出を行い網膜中心部および周辺部の RGC 数を計測した。また 8 週齢雄性ラットに同様に硝子体注射を行い、注射 12 時間後に眼球摘出を行って網膜の p-c-Jun の発現を Western Blot 法で、網膜のアポトーシスを TUNEL 染色で評価した。p-c-Jun の発現部位を検討するため免疫染色も行った。

なお本研究は、聖マリアンナ医科大学動物実験委員会 (承認番号 1908001 号) の承認を得たものである。統計は ANOVA 後 Dunnett' s 検定を用いた。P < 0.05 を統計学的に有意とした。

結果

中心部の RGC 数は、コントロール群では 2963/mm²であったのに対し、NMDA 群では 962/mm²であり、ペマフィブラート内服群では 1350/mm²であった。また周辺部の RGC 数は、コントロール群では 2072/mm²であったのに対し、NMDA 群では 752/mm²であり、ペマフィブラート内服群では 1106/mm²であった。中心部および周辺部ともに NMDA 硝子体内投与群で有意に減少しており、ペマフィブラート内服群ではこの NMDA による減少は有意に抑制されていた。網膜の Western Blot 法にて NMDA 硝子体注射後に p-c-Jun の発現は上昇しており、ペマフィブラート内服群ではこの NMDA による上昇は抑制された。また、TUNEL 染色では NMDA 硝子体内

投与群の網膜で RGC layer (RGCL) と inner nuclear layer (INL) でアポトーシスを認めたが、ペマフィブラート内服群においては RGCL の NMDA によるアポトーシスは有意に抑制された。TUNEL 陽性細胞に一致して p-c-Jun の発現を認めた。

考察

今回の研究では、NMDA 誘発 RGC 死に対するペマフィブラートの全身投与による有意な神経保護効果が明らかになった。本研究は、NMDA の硝子体投与が p-c-Jun タンパク質レベルの有意な上昇をもたらし、この上昇がペマフィブラートの全身投与によって有意に抑制されたことを示した。TUNEL 陽性細胞で p-c-Jun が陽性となったことは、アポトーシスにおける p-c-Jun の関与を示唆しており、これらの細胞はペマフィブラート内服によって減少した。以前の研究で PPAR- α アゴニストがアポトーシスを抑制すると報告がある。最近の研究では、フェノフィブリン酸の毎日の腹腔内注射が、ストレプトゾシン誘発糖尿病モデルラットにおける網膜アポトーシスを有意に減少させることが示唆されている。このように、アポトーシスが糖尿病性網膜症の病態生理に関与しているため、今回の結果からペマフィブラートが糖尿病性網膜症の治療の一つとなる可能性があり更なる研究が求められる。

結論

ペマフィブラート内服によって p-c-Jun の抑制が関与した RGCL および INL におけるアポトーシス抑制による神経保護作用が示唆された。