

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
七里元督	主査 教授 玉井 浩 副査 教授 河野 公一 副査 教授 黒岩 敏彦 副査 教授 米田 博 副査 教授 芝山 雄老
主論文題名 Protection of cerebellar granule cells by tocopherols and tocotrienols against methylmercury toxicity (小脳顆粒細胞へのメチル水銀毒性に対する tocopherol および tocotrienol による保護効果)	
学位論文内容の要旨	
<p>《背景》</p> <p>メチル水銀(MeHg)は水俣病の原因物質として知られているが、現在も生物濃縮により MeHg を蓄積した魚類を妊婦が摂取することで経胎盤性に MeHg が胎児に移行し視野狭窄や小脳性運動失調などの神経障害をおよぼす危険性があり、妊婦の魚類摂取制限が勧告されている。またアマゾン川流域などでは現在も MeHg による水質汚染が報告されている。</p> <p>一方、ビタミン E である tocopherol と tocotrienol はその抗酸化作用による神経保護作用が報告されており、今回、われわれは MeHg の神経毒性(神経細胞死、神経細胞の移動障害)に対する tocopherol および tocotrienol の保護作用を、マウス小脳顆粒細胞(cerebellar granule cell : CGC)の初代培養を用いて評価した。</p> <p>《方法》</p> <p>出生 1 日目(migration assay、acrolein 染色)または 7 日目(細胞生存率の評価)の ICR マウスの小脳を摘出し、小脳顆粒細胞を既報にのっとり採取し、25mM KCl 含有 DMEM にて培養した。10 μ M の α-(β-, γ-, δ-) tocopherol または 1 μ M の α-(β-, γ-, δ-) tocotrienol を 24 時間前投与した後、2.5 μ M MeHg を添加しさらに 24 時間培養し、(1)MTT 法による細胞生存率の評価、(2)laminin 添加培養下で migration assay(細胞の移動度)、(3)過酸化脂質 acrolein の免疫細胞染色を行なった。</p> <p>《結果》</p> <p>採取された小脳細胞は MAP2 陽性細胞(ニューロン)が 90%以上を占めていた。</p> <p>(1)CGC の生存率は MeHg 濃度依存性に低下し、MeHg 非投与での生存率を 100%とすると、2.5 μ M MeHg のみでは生存率は 20%であった。しかしながら tocopherol、tocotrienol 前投与を行ったものでは 80%以上に改善することができた。また、tocotrienol は tocopherol よりも低い濃度(約 1/10)でも効果がみられた。</p> <p>(2)CGC は laminin 添加培養下で神経突起をのぼし、それに沿って移動することができることが知られている。MeHg 非投与群では 140~160 μ m まで移動することが可能であるが、MeHg 投与群では 20</p>	

μm しか移動せず、また神経突起も消失していた。しかし、tocopherolまたはtocotrienolを前投与した群では60～80 μm 移動することができ、移動障害に対する改善効果がみられた。

(3)細胞染色では、MeHg投与群では核の萎縮と核周囲のacroleinの濃染像が観察された。Acrolein陽性細胞の比率(acrolein陽性細胞/DAPI陽性細胞)を比較したところ、MeHg非投与では $7.2 \pm 1.2\%$ であったがMeHg投与によって $49.0 \pm 8.3\%$ まで増加した。 α -tocopherolおよび α -tocotrienolの前投与後にMeHgに曝露したものでは各々 $25.6 \pm 9.7\%$ 、 $27.0 \pm 4.9\%$ とacrolein陽性細胞の減少がみられた。

《考 察》

tocopherolおよびtocotrienolはその抗酸化作用によりMeHgの神経毒性に対し保護作用があることが認められた。特にtocotrienolはtocopherolに比べMeHgによる細胞死または移動障害に対し低濃度で同様の効果が得られた。これは細胞への取り込み効率がtocotrienolの方がtocopherolに比べ高いためであると考えられる。母体に投与されたtocopherolおよびtocotrienolは胎盤を經由して胎児の脳へ移行することも報告されており、MeHgによる神経障害を予防、治療できうる可能性が示唆された。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	七 里 元 督
論文審査担当者		主 査 教 授 玉 井 浩	
		副 査 教 授 河 野 公 一	
		副 査 教 授 黒 岩 敏 彦	
		副 査 教 授 米 田 博	
		副 査 教 授 芝 山 雄 老	
主論文題名			
Protection of cerebellar granule cells by tocopherols and tocotrienols against methylmercury toxicity (小脳顆粒細胞へのメチル水銀毒性に対する tocopherol および tocotrienol による保護効果)			
論文審査結果の要旨			
<p>申請者は小脳顆粒細胞の初代培養系を用いて、メチル水銀(MeHg)の神経毒性をビタミン E である tocopherol と tocotrienol の抗酸化作用により抑制できるかを検討している。</p> <p>MeHg は水俣病の原因物質としてよく知られているが、現在も生物濃縮により MeHg を蓄積した魚類を妊婦が摂取することで経胎盤性に MeHg が胎児に移行し神経障害をおよぼす危険性があり、妊婦の魚類摂取制限が勧告されている。またアマゾン川流域などでは現在も MeHg による水質汚染が報告されている。しかしながら、MeHg による神経毒性に対する治療方法は確立したものがない。</p> <p>申請者は、MeHg による小脳顆粒細胞の細胞死および移動障害を tocopherol と tocotrienol が有意に改善させることを示している。特に tocotrienol は tocopherol に比べ MeHg による細胞死または移動障害に対し低濃度で効果があることを示している。</p> <p>母体に投与された tocopherol および tocotrienol は胎盤を経由して胎仔の脳へ移行することも報告されており、MeHg の神経障害に対し有効な予防薬、治療薬となりうる可能性が示唆された。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第9条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Brain Research (1182): 106-115, 2007</p>			