

学位論文の要旨

三 重 大 学

所 属	甲 三重大学大学院医学系研究科 生命医科学専攻 臨床医学系講座 産科婦人科学分野	氏 名	かわむら たくや 河村 卓弥
-----	--	-----	-------------------

主論文の題名

Therapeutic Effect of Nicotinamide Mononucleotide for Hypoxic-Ischemic Brain Injury in Neonatal Mice

主論文の要旨

新生児低酸素性虚血性脳症 (neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy:HIE) は 1000 出生につき、1-3%程度で起こるとされ新生児死亡、精神発達遅滞、てんかん、脳性麻痺を引き起こす重症の疾患群である。未だ予後不良の疾患で有り、治療法の確立、病態生理の解明は臨床医から強く求められている。

Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) は複数の細胞代謝に不可欠な cofactor であり、エネルギーの産生に重要な役割を担っている。ミトコンドリアの機能障害は低酸素性虚血性脳障害 (hypoxic-ischemic brain injury:HI injury) において二次性脳損傷の発症に重要であると考えられており、成人の脳卒中後に NAD⁺を維持することで虚血性脳梗塞のサイズが縮小されることが報告されている。

今回、細胞内の NAD⁺濃度を増加させるとされる Nicotinamide Mononucleotide (NMN)を用いてその neonatal HIE への効果について検討した。

C57BL/6J マウスを用いて、新生児 HIE モデルとして良く知られる Vannucci モデルを使用した。日齢 9 (ヒトにおける term に値する) の雌雄マウスをイソフルランにて全身麻酔を導入し、左総頸動脈を 6-0 絹糸で結紮し、閉創した。その後、仔マウスは母マウスのもとに戻され、1 時間のリカバリータイムを置いた、加温チャンパーで 50 分間 10%の低酸素素に曝露した。その後は再度母マウスの元に戻され、適宜実験が施行された。

まず、NMN の至適用量を定めるために HI injury 直後に、それぞれ生理食塩水 (control 群)、NMN 50mg/kg、150mg/kg、300mg/kg を腹腔内投与した。その 12 時間後に海馬における Caspase-3 活性を測定した。その結果、NMN 50mg/kg が control 群と比較し有意に Caspase-3 活性を低下させたため (n=9-

20、 $p=0.021$) 以降の実験には NMN 50mg/kg を使用した。

次に NMN 投与が HI 後における仔の海馬での組織内 NAD⁺濃度、NAD⁺依存性酵素である Sirtuin (Sirt) である Sirt1 および Sirt6 protein の発現について検討した。その結果、HI injury は結紮側 (ipsilateral) において NAD⁺濃度、Sirt6 protein の発現を有意に低下させたが、Sirt1 protein には影響を与えなかった。さらに NMN 投与で結紮側の NAD⁺濃度、Sirt6 protein の発現が有意に増加した。さらに NMN は病的な条件下で核内から放出され、炎症性メディエーターとして働くことが知られている high mobility group-1(HMGB-1)の放出も明らかに低下させた。上記から NMN 投与が Sirt6 と HMGB-1 に関係し、NMN 投与が HI injury に対して神経保護作用を持つことが示唆された。

さらに NMN が長期の神経病理学的転帰、神経行動発達に影響を与えるかどうかを検討した。NMN は Righting reflex、Negative geotaxis test、Cylinder test、Rotarod test において有意に HI injury による影響を改善し、また、Nobel Object test においても仔の認知機能を改善した。また、NMN は P45 (ヒトにおける青年期) における神経学的病理所見を改善した。

上記研究の結果から NMN が neonatal HIE における有望な治療薬である可能性が示唆された。しかし、そのシグナル経路、ヒトにおける至適用量、投与方法などについては検討が必要である。