



Title	脊髄障害を対象とした動物モデルと血液脊髄関門機能に着目した治療方法の開発 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	五月女, 慧人
Description	配架番号 : 2768
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15450号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89959
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SOTOME_Akihito_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 五月女 慧人

主査 教授 神谷 温之
審査担当者 副査 准教授 夏賀 健
副査 教授 田中 真樹

学 位 論 文 題 名

脊髄障害を対象とした動物モデルと血液脊髄関門機能に着目した治療方法の開発
(Research of Spinal Cord Disorders for Development of an Animal Model and a Therapeutic
Strategy via Protection of Blood-Spinal Cord Function)

脊髄障害には、急性障害である脊髄損傷と、慢性障害である圧迫性脊髄症がある。どちらも、本質的な治療方法はいまだ確立されていない。脊髄損傷の損傷範囲の拡大には、血液脊髄関門（Blood-Spinal Cord Barrier: BSCB）の破綻が関与しているため、申請者は BSCB を保護する薬剤に着目した。既存薬 3,200 種を独自にスクリーニングし、高い BSCB 保護効果を持ち、臨床応用可能な薬剤の候補として、次硝酸ビスマスと同定した。次硝酸ビスマスは、BSCB 保護作用、脊髄損傷後の組織保護作用、機能回復促進作用を有しており、その薬理機序は細胞内 glutathione の上昇であることを明らかにした。また、申請者は圧迫性脊髄症にも血液脊髄関門の破綻が関与しているという点から、次硝酸ビスマスは圧迫性脊髄症の病態も改善する可能性があると考えた。しかし、圧迫性脊髄症を適切に模擬した動物モデルが未だ普及していないため、次硝酸ビスマスの臨床的改善効果の判定が困難であった。そこで、動物モデルを確立する上で重要な、脊柱管径、脊髓径、脊柱管径－脊髓径（Space available for the spinal cord: SAC）を経時的に計測し、モデルを作成するための至適週齢を明らかにした。申請者は、4～40 週齢のラットに脊髄造影 CT を行い、計測を行った結果、圧迫性脊髄症の動物モデルには、8 週齢以降が必須であり、理想的には 24 週齢以降が望ましいと結論づけた。

審査にあたり、まず副査の夏賀健准教授から、引用文献の不備の指摘があり訂正が求められた。ビスマスの腸粘膜保護の機序が、今回報告した機序と同一であるか質問があり、内服では 99%以上が排泄されるため異なる可能性もあるが、腸粘膜にトラップされて局所的にビスマスの濃度が上昇し同一の作用機序で効果を示している可能性もあると回答した。細

胞活性という表記は、細胞の生存率を見ているのかとの質問に、PrestoBlue を用いて生細胞の還元力を定量しているため、生存率を反映すると考えると回答した。IgG の染色は、蛍光標識ないし内在性の IgG のいずれを反映するかとの質問に、内在性 IgG を反映すると回答があった。GFAP の面積は何の指標かとの質問に、障害により増加する反応性アストロサイトを反映すると回答した。BSCB を構成している主細胞は何かとの質問には、脳血管内皮細胞であると回答した。BSCB のバリア機能の実体に関する質問には、tight junction や adherens junction に加え、細胞そのものもバリア機能の一部であると回答した。さらに、RNA sequence で tight junction に関する pathway は同定されなかったのか、との質問には、glutathione metabolism の方がより上位の pathway として同定された、と回答した。

続いて、副査の田中真樹教授から、ビスマスは血管内皮細胞以外の細胞にも作用しているのか質問があり、アストロサイトや神経細胞にも作用して保護作用を示したことを確認したと回答した。またグルタチオン直接投与の有効性について質問があり、血管内で迅速に代謝され直接投与による効果は軽微であるが、ビスマスは少量で細胞内グルタチオン濃度を大幅に上昇させるため、より効果的であると回答した。脊髄損傷患者に適用する際の投与方法の質問には、周術期の食事・飲水制限なども考慮すると、経口より注射剤が望ましいと考えていると回答した。注射剤の場合、血中濃度が内服より上昇すると思われるが、安全性は大丈夫なのかとの質問に、ビスマスは感染症治療薬としてはヒトに注射剤として使用されていたことがあり、今回ラットに投与したでは明らかな副作用を認めなかったことから懸念は少ないと考えるが、ヒトでの臨床応用には厳密な安全性試験が必要であると回答した。無酸素無糖負荷に対する効果が再灌流後の再酸素化による可能性に関する質問には、再酸素化障害を含めての細胞保護効果と考えられると回答した。

最後に、主査の神谷温之教授から論文題名と内容に乖離があり、題名の変更を検討するようコメントがあった。また先行研究においてビスマスによるグルタチオン上昇に関する報告の有無に関して質問があった。申請者は、腎細胞においては報告されているが、血管内皮細胞、神経細胞、グリア細胞においては報告されていないと回答した。

この論文は、新規脊髄損傷治療薬としての潜在的可能性、圧迫性脊髄症モデル作成の基盤作成という点において高く評価され、今後の臨床応用や更なる知見の集積が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。