

別紙1-1

論文審査の結果の要旨および担当者

|      |   |   |   |   |
|------|---|---|---|---|
| 報告番号 | ※ | 甲 | 第 | 号 |
|------|---|---|---|---|

氏 名 和田 健太郎

論 文 題 目


Subarachnoid hemorrhage induces neuronal nitric oxide synthase phosphorylation at Ser<sup>1412</sup> in the dentate gyrus of the rat brain

(くも膜下出血によるラット海馬歯状回での nNOS Ser<sup>1412</sup> のリン酸化の促進)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

阿部 健治 

名古屋大学教授

委員

久場 博司 

名古屋大学教授

委員

志森 公浩 

名古屋大学教授

指導教授

若林 俊彦 

## 論文審査の結果の要旨

別紙1-2







今回、ラットのくも膜下出血(以下 SAH)モデルを作成し、SAH 後急性期における海馬と皮質での Ser<sup>1412</sup> リン酸化 neuronal nitric oxide synthase (以下 nNOS)の経時的な発現変化と発現部位の局在ならびに、AMP-dependent protein kinase(以下 PKA)との関連性について検討した。SAH 後 PKA が海馬の dentate gyrus(以下歯状回)において nNOS の Ser<sup>1412</sup> リン酸化を引き起こしていることを発見した。この Ser<sup>1412</sup> リン酸化によって nNOS の活性が上昇し、過度な NO の産生が誘発されることにより神経障害をきたし、SAH 後の脳高次機能障害の原因の一つであることが示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. NO が上昇すると一般的には血管平滑筋細胞の増殖抑制作用や血管内皮細胞の血管透過性調節作用が報告されているが、細胞レベルでは neurotransmitter として働いている。SAH 後急性期 nNOS の Ser<sup>1412</sup> リン酸化によって生産された過剰な NO は superoxide anion を生成し歯状回での神経細胞に悪影響を及ぼしていると考えられた。
2. 我々の過去の報告から、CaM-KII による nNOS の Ser<sup>847</sup> リン酸化を検討した結果では、SAH 後海馬の CA1 領域で有意な nNOS Ser<sup>847</sup> のリン酸化が認められ、nNOS の活性を抑制していた。それにより神経保護作用に関与していると報告した。本実験では、SAH 後海馬の歯状回において nNOS Ser<sup>1412</sup> がリン酸化することで nNOS は活性化していた。以上のことより、SAH 後の同じ海馬でも異なる部位によっても nNOS の活性化は異なっていることが判明した。
3. SAH の出血量とリン酸化の関係については、出血量により頭蓋内圧の上昇の程度も変化し、出血が多くなると頭蓋内圧上昇による脳虚血の程度も顕著となりリン酸化が強く誘導されてくる可能性が高いと思われる。今後、出血量とリン酸化の関係に関しても更に検討を予定している。
4. 同じ条件で自己血を投与した SAH モデルと生理食塩水を投与したモデルで歯状回の nNOS Ser<sup>1412</sup> が同程度にリン酸化された理由としては、それぞれの投与で急性期での頭蓋内圧の上昇が一過性の脳虚血状態を引き起こすことが原因と考えられる。脳虚血に伴い PKA を介して nNOS Ser<sup>1412</sup> のリン酸化が引き起こされた。以上より、SAH 後の頭蓋内圧の上昇が early brain injury に深く関与していることが示唆された。
5. ADP-agaroseゲルを用いてNOSを部分的に精製し、NOS分画を作成、nNOSならびに特異的Ser<sup>1412</sup>リン酸化 nNOS (NP1412) 抗体を用いてWestern blotと免疫組織染色を行い、NP1412 の発現について海馬と皮質において比較検討することで関係性を確認した。

以上の理由により、本研究は博士(医学)の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

|  |  |   |    |        |
|--|--|---|----|--------|
| 報告番号   | ※甲第  | 号 | 氏名 | 和田 健太郎 |
| 試験担当者  | 主査  阿部 健治  佐藤 博司  古森 公浩 <br>指導教授  若林 俊彦  |   |    |        |
| <p>(試験の結果の要旨)</p> <p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. NOが上昇すると細胞レベルではどのような変化が起こるのか？</li> <li>2. nNOSがリン酸化を受けると活性化するのだろうか？</li> <li>3. nNOSのリン酸化が強くなる場合、SAHの出血量との関係はどうか？</li> <li>4. 生理食塩水モデルでもnNOSのリン酸化が起こる理由はどうか？</li> <li>5. Ser<sup>1412</sup>とnNOSの関係はどのように判断するのか？</li> </ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、脳神経外科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p> |  |   |    |        |