

学位論文内容要旨

論文題目

Temporal profile of neural stem cell in subventricular zone, dentate gyrus and cerebral cortex following focal cerebral ischemia in human copper/Zinc superoxide dismutase overexpressing mice

指導(紹介)教授: 嘉山 孝正

申請者氏名: 佐藤 知彦

【目的】近年、げっ歯類の成体脳さらにヒト成人脳でも神経幹細胞の存在が明らかにされ、脳虚血負荷後の神経幹細胞の発現が側脳室下帯、海馬歯状回で報告されている。当教室ではこれまで、ラット一過性局所脳虚血負荷後の側脳室下帯、海馬歯状回における神経幹細胞の経時的な変化や、大脳皮質梗塞巣周囲で神経幹細胞が発現している可能性を報告した。また、フリーラジカル消去酵素である copper/Zinc superoxide dismutase(SOD1)遺伝子導入マウスを用いた研究で、一過性局所脳虚血負荷後の神経幹細胞の発現が増強されることを報告してきたが、一過性局所脳虚血負荷後の神経幹細胞発現の経時的変化と大脳皮質梗塞巣周囲での動態については明らかではなく、本研究ではこの点を明らかにすることを目的として研究を行った。

【方法】SOD1 遺伝子導入マウス(Tg)と wild type mice(Wt)を用いて、30 分間の一過性中大脳動脈閉塞モデルを作製した。虚血負荷後 1, 2, 3, 4 週後に増殖細胞のマーカーである 5-bromo-2'-deoxyuridin(BrdU)を腹腔内投与し、抗 BrdU 抗体による免疫染色にて検出した。さらに抗 BrdU、抗 NeuN (神経細胞のマーカー) 抗体を用いた蛍光二重免疫染色を行い、新生神経細胞の評価を行った。

【結果】Tg における BrdU 陽性細胞の経時変化は Wt と異なることが明らかとなった。すなわち側脳室下帯においては Tg 群で 2 週後にピークを認めたのに対し、Wt では 4 週後まで増加が持続し、Tg 群でピークが早期に認められた。海馬歯状回ではピークに違いはないが 1 週後に有意の増加を認めた。以上より、Tg では一過性局所脳虚血負荷後の BrdU 陽性細胞の発現が早まると考えられた。BrdU/NeuN 陽性細胞について、側脳室下帯と海馬歯状回では Tg と Wt で発現に差がなく、経時的な相違は認めなかったが、大脳皮質梗塞巣周囲では Tg でのみ陽性細胞を認め、新生神経細胞と考えられた。

【考察】

Tg において一過性局所脳虚血負荷後、SVZ では BrdU 陽性細胞の発現ピークが早期に認められた。これは新生神経細胞が Tg においてのみ大脳皮質梗塞巣周囲で認められたことから、神経幹細胞が SVZ から遊走して梗塞巣周囲に移動したため、SVZ における BrdU 陽性細胞発現数が早期に減少した可能性が示唆された。DG においては BrdU 陽性細胞の増加を認めたが、これは直接 SOD1 が酸化ストレスから神経幹細胞を保護した可能性と間接的に神経幹細胞発現を促進する細胞に対する酸化ストレスからの保護効果が考えられた。今後、内因性の神経幹細胞発現をコントロールできれば脳梗塞後の機能回復につながる可能性がある。以上より本研究は SOD1 が神経再生において重要な役割を果たしている可能性が示唆され、今後の脳梗塞治療開発に寄与するものと考えられる。

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 佐藤 和彦
論文 題目： Temporal profile of neural stem cell in subventricular zone, dentate gyrus and cerebral cortex following focal cerebral ischemia in human copper/Zinc superoxide dismutase overexpressing mice

審査 委員： 主査 後藤 薫
副査 加藤 丈夫
副査 本山 第一

審査終了日：平成 20 年 2 月 4 日

【論 文 審 査 結 果 要 旨】

近年、げっ歯類の成体脳さらにヒト成人脳でも神経幹細胞の存在が明らかにされている。これまで、成体における神経幹細胞は様々なストレス後に増加することが報告され、脳 12 虚血負荷後の神経幹細胞の発現に関しては側脳室下帯、海馬歯状回で観察されていた。また、フリーラジカル消去酵素である copper/Zinc superoxide dismutase (SOD1) 遺伝子導入マウスを用いた実験で、一過性局所脳虚血負荷後の再灌流障害が軽減されること、加齢による神経幹細胞の減少が抑制されること、一過性局所脳虚血負荷後の神経幹細胞の発現が増強されることなどが明らかにされている。しかし、一過性局所脳虚血負荷後の神経幹細胞発現の経時的変化と大脳皮質梗塞巣周囲での動態については明らかではない。佐藤氏は本研究において、この点を明らかにすることを目的として、正常 (Wt) および SOD1 遺伝子導入マウス (Tg) を用いて研究を行った。

30 分間の一過性中大脳動脈閉塞モデルを用いて、虚血負荷後 1, 2, 3, 4 週後に 5-bromo-2'-deoxyuridin (BrdU) の腹腔内投与により増殖細胞をラベルし、抗 BrdU 抗体および抗 NeuN (神経細胞のマーカー) 抗体を用いて新生神経細胞の評価を行ったところ、以下の結果を得た。

- 1) BrdU 陽性細胞の経時変化は、側脳室下帯においては Tg 群で 2 週後にピークを認めたのに対し、Wt では 4 週後まで増加が持続していた。
- 2) 一方、海馬歯状回では出現ピークに違いはないが Tg 群で 1 週後に有意の増加を認めた。
- 3) BrdU/NeuN 二重陽性細胞については、側脳室下帯と海馬歯状回では Tg と Wt 間で差がなく経時的な相違は認めなかったが、大脳皮質梗塞巣周囲では Tg でのみ陽性細胞が検出された。

佐藤氏の研究は、Tg 群において一過性局所脳虚血負荷後の側脳室下帯で BrdU 陽性細胞の発現が早まることを明らかにし、SOD1 が関与する神経再生メカニズムの解明に大きく貢献していると考えられるので、学位審査委員会は本研究が博士 (医学) の授与に値するものと判定した。