

学位論文内容要旨

論文題目

Cortical neurogenesis in peri-infarct zone and proliferation of neural progenitors in subventricular zone and dentate gyrus following transient focal cerebral ischemia in rats

(ラット大脳皮質および側脳室下帯、海馬における局所脳虚血後の神経再生に関する検討)

指導(紹介)教授: 嘉山 孝正
申請者氏名: 久下 淳史

【目的】

近年、げっ歯類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た。これまでに成体での神経幹細胞の動態については様々なストレスの後にその発現量が変化することが報告されてきた。

しかしながら、脳虚血負荷後の神経幹細胞の発現に関しては側脳室下帯、海馬歯状回でその発現が観察されているものの、大脳皮質梗塞巣周囲における神経幹細胞の動態に関する報告は少ない。

そこで本研究では、一過性局所脳虚血負荷後の大脳皮質梗塞巣周囲での神経幹細胞の動態について検討を行った。

【方法】

SD ラット(270-300)を用いて intraluminal suture method による 60 分間の一過性左中大脳動脈閉塞モデルを作成した。

5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与により虚血負荷後の増殖細胞を検出し、免疫組織学的に大脳皮質梗塞巣周囲、側脳室下帯(SVZ)、海馬歯状回(DG)における増殖細胞の動態を評価した。加えて、蛍光二重免疫染色による増殖細胞の評価を行い、虚血負荷後の大脳皮質梗塞巣周囲に発現する細胞の性質について経時的に検討した。

【結果】

大脳皮質梗塞巣周囲では虚血負荷後 3 週間目には BrdU/NeuN 陽性細胞が認められ、8 週目まで少数ながら大脳皮質梗塞巣周囲に BrdU/NeuN 陽性細胞の発現を認めた。GFAP 陽性細胞は 1 週間目から梗塞巣周囲に増殖しており、以後 8 週間目まで認めた。BrdU/GFAP 陽性細胞は経過中ほとんど認めなかった。IB4 陽性細胞は 1 週間目には梗塞巣および梗塞巣周囲に多数増殖しており、一部に BrdU/IB4 陽性細胞を認めた。IB4 陽性細胞は 4 週目から徐々に減少していく傾向を認めた。

SVZ では虚血負荷後 1 週目から BrdU 陽性細胞の増殖が認められ、3 週目にピークを認めた。DG では虚血負荷後 4 週目に BrdU 陽性細胞のピークを認めた。また、SVZ、DG とも非虚血側でも虚血側と同様に BrdU 陽性細胞の増殖を認めた。虚血負荷後 8 週間の経過では SVZ から大脳皮質梗塞巣周囲への明らかな BrdU 陽性細胞の遊走を示唆する所見は認めなかった。

【考察】

本研究では SVZ から大脳皮質梗塞巣周囲への神経幹細胞の明らかな遊走は認めなかったものの大脳皮質梗塞巣周囲で虚血負荷後 3 週目から 8 週目まで少数ながら、BrdU/NeuN 陽性細胞を認めた。これは大脳皮質に存在する内在性神経幹細胞が虚血負荷後に成熟神経細胞へ分化した可能性とさらにその細胞が比較的長期に生存する可能性を示唆している。また、局所脳虚血負荷後 SVZ、DG ではそれぞれ 3 週目、4 週目に BrdU 陽性細胞のピークを認めた。非虚血側でも BrdU 陽性細胞の増殖が認められたが、両側性の細胞増殖がおこる原因としては、シナプス等の神経ネットワークを介する電気的あるいは化学的作用の関与が考えられるが今後の更なる検討を要する。

本研究により脳虚血後、大脳皮質における神経再生が起こる可能性が示唆された。本研究は神経再生という観点から今後の新たな脳梗塞治療開発に寄与するものと思われる。

平成 17 年 8 月 23 日

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： 久下 淳史

論文題目： Cortical neurogenesis in periinfarcted zone and proliferation of neural progenitors in subventricular zone and dentate gyrus following transient focal cerebral ischemia in rats (ラット大脳皮質および側脳室下帯、海馬における局所脳虚血後の神経再生に関する検討)

審査委員：主審査委員

菅 環 一 郎



副審査委員

加 藤 宏 司



副審査委員

久 保 田 功



審査終了日：平成 17 年 8 月 22 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

近年ヒト脳における神経幹細胞の存在が証明されたが、大脳皮質梗塞巣周囲の神経幹細胞の動態に関する報告はこれまでに数少ない。本研究ではintraluminal suture methodによりラットで一過性左中大脳動脈閉塞を作製し、大脳皮質梗塞巣周囲、側脳室下帯、海馬歯状回における増殖細胞の動態と発現細胞の性質について免疫染色を用いて経時的に検討した。大脳皮質梗塞巣周囲では虚血負荷後3週目に増殖細胞が認められ、その一部はNeuN陽性の成熟神経細胞であった。また、虚血負荷後3週目および4週目にそれぞれ側脳室下帯および海馬歯状回において両側に細胞増殖が認められた。一方、側脳室下帯から大脳皮質梗塞巣周囲への明らかなBrdU陽性細胞の遊走は認められなかった。

本研究では初めて大脳皮質梗塞巣周囲におけるBrdU/NeuN陽性細胞の存在を示した。同時に、虚血負荷により大脳皮質と同様に側脳室下帯および海馬歯状回においても増殖細胞の存在が証明されたものの、大脳皮質梗塞巣周囲の増殖細胞の起源として側脳室下帯からの神経幹細胞の遊走は観察されなかった。そこで申請者は、虚血負荷が刺激となり大脳皮質の内在性神経幹細胞が成熟神経細胞に分化したものであると推察した。

以上の研究成果は、脳虚血後の大脳皮質に神経再生が起こる可能性を示唆している点で興味深く、本研究が将来神経再生医学に貢献することが期待され、意義ある研究と考えられる。したがって学位論文審査委員会は本論文が論文博士(医学)の学位を受けるに値するものであると判定した。

(1, 200字以内)