



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Increase of basic fibroblast growth factor immunoreactivity and its mRNA level in rat brain following transient forebrain ischemia              |
| Author(s)    | 高見, 健治                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1993, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/38703">https://hdl.handle.net/11094/38703</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 高 見 健 治

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 9 1 9 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 5 年 9 月 17 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 Increase of basic fibroblast growth factor immunoreactivity and its mRNA level in rat brain following transient forebrain ischemia  
(一過性前脳虚血後のラットの脳における塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) の増加)

論 文 審 査 委 員 (主査)  
教 授 遠山 正彌

(副査)  
教 授 塩谷弥兵衛 教 授 早川 徹

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 【目 的】

塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) は中枢神経系に胎生期より存在し、神経系の発生、維持並びに損傷後の修復過程に関与すると考えられているが、その正確な作用機序は明らかとなっていない。本研究ではラットに一過性の前脳虚血を負荷した際に生じる海馬の組織傷害と bFGF 量の変化について組織学的並びに生化学的手法を用いて検索し、損傷修復過程における bFGF の役割を明らかにすることを目的とした。

## 【方 法】

実験動物として8-10週齢のJcl:Wistar ラットを用いた。一過性の前脳虚血動物は、ペントバルビタール麻酔下で、両側椎骨動脈を焼灼し、翌日両側総頸動脈を20分間結紮することにより作製した。動物を脳虚血24時間～30日後に剖検、脳を摘出し、下記の組織学的並びに生化学的検索に供した。bFGF immunoreactivity の検索にはマウスモノクローナル抗ヒト bFGF 抗体を用い、免疫組織化学、Enzyme immunoassay 及び Western blot 法を行った。bFGF mRNA の同定には3'末端を<sup>35</sup>S-dATP で標識した合成オリゴ DNA を用いて *In situ* hybridization 組織化学法を行った。

## 【成 績】

クレシールバイオレット染色切片の観察の結果、虚血72時間後に海馬 CA1野の錐体細胞に壊死が認められはじめ、5日後には明瞭となった。また、同領域内ではグリア細胞が増加し、10及び30日後においては多数認められた。bFGF 免疫陽性反応は、正常ラットの海馬ではグリア細胞の突起及び細胞質内に認められた。虚血負荷ラットでは48時間以後、海馬 CA1野において bFGF 陽性細胞の増加と細胞体及び突起の肥大が観察され、10及び30日後においてこれらの変化はさらに顕著となった。隣接切片を Glial fibrillary acidic protein (GFAP) 免疫組織染色し検索したところ、bFGF 陽性細胞は GFAP 陽性細胞と極めて類似した形態並びに分布を示し、bFGF 陽性細胞はアストロサイトと考えられた。bFGF mRNA は正常ラットの海馬において、Fasciola cinereum 及び CA2野の錐体細胞に認められた。虚血後、CA1野の錐体細胞では一過性の bFGF mRNA 発現がみられたが、神経細胞壊死と共に消失した。

一方、同領域内では虚血24時間以後グリア細胞とみられる細胞群において bFGF mRNA 発現の増加がみられ、30 日後においてもこの増加は観察された。bFGF immunoreactivity の変化をさらに詳しく調べるため、Enzyme immunoassay を行った。bFGF 量は正常ラットの海馬では  $10\mu\text{g/g}$  であったが、脳虚血負荷により、48時間後には1.5倍に、10日後には1.7倍に増加した。Western blot 法により正常ラットの海馬において、分子量18、22及び24 kDa の3種の bFGF immunoreactivity が検出され、他の報告の bFGF の分子量とよく一致していた。虚血負荷ラットにおいては48時間及び10日後において、これら3種の bFGF immunoreactivity の増加が認められた。

#### 【総括】

bFGF 量は脳虚血後早期より組織傷害部位で1.5-1.7倍に増加し、同部位の反応性アストロサイトがその増加の大半を担っていることを見いだした。さらに bFGF mRNA の検索により、この増加は bFGF の産生亢進により引き起こされることを明確にした。以上の結果より、bFGF は虚血による脳の損傷後の組織修復過程にみられる反応性アストロサイトにおいて重要な役割を演じていることが示された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は脳損傷のひとつのモデルとしてラットの一過性前脳虚血モデルを用い、虚血負荷後に生じる組織傷害と塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) 量の経時的变化について組織学的、生化学的手法により総合的に検索したものである。その結果、bFGF 量は脳虚血後早期より組織傷害部位で増加することが明らかとなり、同部位の反応性アストロサイトがその産生亢進を担っていることが証明された。これらは脳損傷後の組織修復過程におけるアストロサイトの機能において bFGF が重要な役割を演じていることを示唆する新たな知見であり、脳損傷の病態解明に寄与するものである。したがって、本研究は学位に値するものと考えられる。