

Title	OXYGEN-INDUCED NEURONAL DEATH IN CULTURED CNS NEURONS AND SURVIVAL PROMOTING EFFECT OF NEUROTROPHIC FACTORS
Author(s)	榎戸, 靖
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38862">https://hdl.handle.net/11094/38862</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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">&lt;/a&gt;</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	えのき 榎 戸 やすし 靖
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 2 2 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物化学専攻
学 位 論 文 名	OXYGEN-INDUCED NEURONAL DEATH IN CULTURED CNS NEURONS AND SURVIVAL PROMOTING EFFECT OF NEUROTROPHIC FACTORS (酸素毒性による中枢神経細胞死と神経栄養因子との関わり)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 畠 中 寛  (副査) 教 授 中 川 八 郎 教 授 小 倉 明 彦

#### 論 文 内 容 の 要 旨

中枢ニューロンにおける細胞死の問題は、発生過程でみられる神経系の構築機構のみならず、ニューロン死に起因する様々な神経疾患の原因や治療法を考える上でも重要である。本研究では、酸素毒性による中枢ニューロン死の生化学的性質およびそれらに対するニューロンの損傷修復機構の解明を目的として以下の実験を行った。実験には PC12h 細胞およびラット中枢ニューロンの培養系を用い、培養時のインキュベータ内気相酸素濃度を変化させることにより、培地中の溶存酸素濃度変化にともなう酸素ストレスがニューロンの生存や機能に与える影響を調べた。

まず、神経細胞分化のモデル細胞として知られる PC12h 細胞を用い、高酸素負荷によって誘導される神経系の細胞死と神経栄養因子による生存維持効果について検討した。その結果、気相酸素濃度の上昇にともなって PC12h 細胞の増殖阻害が観察され、50%気相酸素濃度では顕著な細胞死が観察された。この死は神経栄養因子として知られる NGF や bFGF などによって抑えられることがわかった。以上の結果から、神経栄養因子によって神経細胞様に分化した PC12h 細胞には酸素ストレスに対する何らかの耐性機構が誘導されていることが示唆された。

次に、神経栄養因子による脳損傷修復因子としての働きに注目し、酸素ストレスを受けた培養中枢ニューロンに対する神経栄養因子の機能修復および生存維持効果について検討した。その結果、酸素濃度の上昇にともなう中枢ニューロン死は NGF や bFGF により抑えられたが、NGF による細胞死の阻止効果は bFGF のそれに比べ弱いものであり、前脳基底野コリン作動性ニューロンに限定されたものであることが示された。また、酸素毒性に対する脆弱性の脳内部位特異性を新皮質、海馬、前脳基底野ニューロンについて検討したところ、海馬ニューロンが最も耐性が高く、次いで前脳基底野、新皮質の順であった。

さらに、酸素毒性による中枢ニューロン死の生化学的な性質について調べ、この時のニューロン死が細胞内の自殺プログラムを介したアポトーシスであることを示した。すなわち、(1) ニューロン死は蛋白質や RNA 合成阻害剤によって定量的に抑えられる。(2) ニューロン死の過程で核内 DNA の断片化が観察される。(3) 高濃度カリウムによる脱分極刺激によって L-タイプの Ca チャンネルを介した細胞死の阻止が観察される、等の結果が得られた。

以上の結果から、これまで明らかでなかった神経栄養因子や脱分極刺激による生存維持効果の一部が酸素ストレスへの防御機構によって補償されていることが示唆された。このことは、それらの効果が発生過程における神経系のプログラム細胞死の調節だけでなく、外界からのストレス等によって細胞内自殺プログラムが活性化されることを防ぐためにも重要な役割を担っている可能性を示している。これにより、ニューロンに備わる長期生存能力の一端が担わ

れているのかも知れない。

今後、本研究で用いた実験系は、酸素毒性によるニューロン死だけでなくニューロンに備わるストレス応答のメカニズムについて、分子レベルでの解析を行う上で有効なモデル系となることが期待される。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文では、中枢神経細胞死と神経栄養因子の関わりを研究すると共に、培養条件を高酸素気相とすることによって生じる中枢神経細胞のアポトーシスモデルを構築できることを見いだした。神経細胞のアポトーシス機構について重要な知見を得ており、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。