The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Expression of basic fibroblast growth factor receptor messenger RNA in the periinfarcted brain tissue
Author(s)	坂口, 健夫
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39492
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 15 】

氏　　名	坂　口　健　夫（さか　ぐち　たて　お）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学位記番号	第　11995　号
学位授与年月日	平成7年5月16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	Expression of basic fibroblast growth factor receptor messenger RNA in the periinfarcted brain tissue (梗塞周囲脳における塩基性線維芽細胞成長因子受容体のメッセンジャーRNAの発現)
論文審査委員	(主査) 教授 早川　徹 (副査) 教授 遠山　正彌　教授 柳原　武彦

論文内容の要旨

【目　的】

塩基性線維芽細胞成長因子（bFGR）が中枢神経系の各種神経細胞群に神経栄養因子活性を持つことが報告されている。またラットの中大脳動脈閉塞による皮質線条体梗塞では梗塞側視床の神経細胞が逆行性変性を起こすことが知られているが，これまでに bFGFを脳槽内に注入することにより，この視床逆行性変性が防止できることを示した。この作用機序を解明するために，bFGF レセプター発現の時間的および空間的側面を知ることは重要であると考えられるので，bFGF セプターの遺伝子発現を検討するために，bFGF レセプターmRNAの発現を in situ hybridization を用いて検討した。

【方　法】

雄性ウィスターラット（300g）26匹を用い，抱水クロラール麻酔下に経眼窩的に中大脳動脈を露出し，焼灼閉塞した。ラットを4群に分け，7匹は1日後，7匹は3日後，6匹は7日後，残り6匹は14日後に灌流固定を行い，脳を取り出してパラフィンにて包埋し，14 μmの脳切片を作成した。さらに6匹のラットに偽手術を行い，1日後及び3日後にそれぞれ3匹ずつから脳を取り出し同様の切片を作成した。RNAプローブは，*flg* タイプのbFGF レセプターの部分cDNA（300塩基対）を鋳型として，制限酵素EcoR1（アンチセンス）とKpnl（センス）によって切断後，RNAポリメラーゼを用いて合成し，この過程で［35S］－UTPでラベルした。脳切片はPaxinosとWatsonのアトラスに従い冠状縫合より2.8－3.3mm後方での冠状断切片を用い，これに対しRNAプローブを反応させ in situ hybridization を行った。切片をX線フィルムに2－3日間密着露光させマクロオートラジオグラムを得た後，切片に感光乳剤をコーティングし，2－3週間露光後チオニンにて対比染色を行ってマイクロオートラジオグラムを作成した。

【成　績】

マクロオートラジオグラムでは，偽手術群においてhippocampus, cingulate cortex, entorhinal cortrx および hypothalamusにシグナルを認めた。これは従来報告されているbFGF レセプターの局在と一致した。梗塞1－7日後においては梗塞側の cingulate cortex と梗塞周囲白質にシグナルを認め，とくに3日後にその出現範囲は最大とな

った。14日後にはシグナルは梗塞辺縁の限局した部位にのみ認められ，これはセンスプローブ画像との対比から梗塞による壊死組織への非特異的結合と考えられた。またいずれの時期にも視床には明らかなシグナルを検出しなかった。偽手術群のマイクロオートラジオグラムの観察では大脳皮質にはbFGFレセプターは存在するものの白質にはほとんど存在しなかった。梗塞7日後においてbFGFレセプターmRNAの発現は対側に比べ梗塞側の皮質において明らかに増加しており，そのシグナルは主に神経細胞にみられたが，一部神経細胞以外の細胞にもシグナルが観察された。また梗塞周辺の白質においてもbFGFレセプターmRNAの発現が広範に観察され，一部対側白質にも及んでいた。隣接切辺のGFAP染色からこの白質での発現細胞はアストログリアと判断された。

【総　括】

局所脳梗塞後のbFGFレセプターmRNAの発現は，1日後より7日後まで梗塞周囲の皮質および白質に認められたが視床には観察されなかった。皮質梗塞により神経終末が傷害を受けた神経細胞体は梗塞側皮質に広範囲に分布しており，梗塞によるdeafferentationにより広い範囲の皮質神経細胞にbFGFレセプターmRNAの発現が惹起されたものと考えられる。またその発現は神経細胞のみならずアストログリアにも見られた。このことから梗塞によりその周囲に発現したbFGFレセプターを介して神経栄養因子活性が発揮されるものと推測された。FGF遺伝子には分泌シグナルが含まれていないことは周知の事実であるが，bFGFが海馬神経細胞とアストロサイトにおいて分泌受容されるとの報告もあり，bFGFレセプターmRNAの発現が皮質神経細胞や白質グリアでの虚血による組織傷害からの回復過程に関与し，結果として視床神経細胞の逆行性変性を防止することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

近年，中枢神経系の損傷とその修復における神経栄養因子の関連が注目されており，梗塞周囲組織には塩基性線維芽細胞成長因子（bFGF）が発現し，これが神経栄養因子活性を持つことが報告されている。本研究は，その作用機構を解明するために，ラット中大脳動脈閉塞モデルを用いて，bFGFレセプター（*flg*タイプ）mRNAの発現をin situ hybridization法を用いて検討した。その結果，梗塞巣周囲の皮質及び白質に，梗塞1日後からbFGFレセプターmRNAの発現が認められ，さらに3日後にその発現範囲が最大になった後7日後まで持続することが明らかとなった。このことから脳梗塞周囲組織には，bFGF及びそのレセプターが比較的早期より発現し，神経細胞に保護的に作用することが示唆された。本研究は脳虚血時にけるbFGFの神経栄養因子作用の発現機序の一端を明らかにしたものであり，学位に値するものと評価される。