

Title	Increased Proliferation of Neuronal Progenitor Cells but Reduced Survival of Newborn cells in the contralateral Hippocampus After Focal Ischemia in Rats
Author(s)	高沢, 健一郎
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43707">https://hdl.handle.net/11094/43707</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</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	高 沢 健 一 郎
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16811 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Increased Proliferation of Neuronal Progenitor Cells but Reduced Survival of Newborn cells in the contralateral Hippocampus After Focal Ischemia in Rats (ラット中大脳動脈閉塞後の非虚血側海馬における神経細胞新生の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二  (副査) 教授 吉峰 俊樹 教授 佐古田三郎

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

成熟脳においてはほとんどの領域で神経細胞の新生は起こらないが、海馬歯状回の顆粒下層 subgranular zone (SGZ) と側脳室周囲 subventricular zone (SVZ) では例外的に神経細胞の新生が持続していることが判明している。SGZ での神経細胞新生は加齢、ホルモンなどの影響以外に、各種の障害侵襲により修飾されることが報告されている。我々の研究室においてもラット一過性前脳虚血モデルを用いて海馬 SGZ で神経細胞新生が増加することを報告している (Y. Yagita et al, Stroke 2001, 32: 1890-1896)。しかし、これまでの脳虚血後の海馬での神経細胞新生に関する検討は、海馬そのものも虚血に曝されるモデルを使用しており、遠隔領域で発症した脳梗塞が、海馬での神経細胞新生にどのような影響を及ぼすかは明らかにはなっていない。そこで、本研究では成熟ラット中大脳動脈閉塞モデルを用いて、海馬を含む非虚血側大脳半球での神経幹細胞の増殖、新生細胞の生存、神経細胞への分化について明らかにすることを目的とした。

#### 【方法】

7週齢雄性ウイスターラットを用いて、4-0ナイロン糸を頸動脈分枝部より挿入し、中大脳動脈起始部まで進める事で左中大脳動脈永久閉塞モデルを作成した。

##### 1) 新生細胞の動態について

コントロール及び虚血1日、4日、7日、14日後に増殖細胞のマーカとして thymidine のアナログの bromodeoxyuridine (BrdU) をそれぞれ50mg/kg で4時間おきに3回腹腔内投与し、翌日にラットを灌流固定し、作成した脳切片を BrdU に対する抗体を用いた免疫組織化学染色に供して評価した。新生細胞数の算定は非虚血側海馬 SGZ および非虚血側大脳半球(前頭葉、帯状回、線条体、前頭頂葉、視床、傍側脳室)、虚血側海馬 SGZ および SVZ において検討した。

##### 2) 中大脳動脈閉塞7日後の非虚血側海馬における新生細胞の性状について

コントロール及び虚血7日後に BrdU を腹腔内投与して、翌日ラットを灌流固定し、作成した脳切片を二重免疫蛍光染色に供した。BrdU に対する抗体と神経幹細胞の選択的マーカーとして抗 musashi-1 (Msi1) 抗体、未分化神経細胞のマーカーとして抗 doublecortin (DCX) 抗体及び星状グリア細胞のマーカーとしては抗 glial fibrillary

acidic protein (GFAP) 抗体を使用した。

3) 中大脳動脈閉塞1ヶ月後の非虚血側海馬における新生細胞の生存率について

コントロール及び虚血7日後にBrdUを腹腔内投与して、1ヵ月後に灌流固定、作成した脳切片をBrdUに対する抗体を用いて免疫組織染色に供した。

4) 中大脳動脈閉塞1ヵ月後の非虚血側海馬における新生細胞の神経細胞、星状グリア細胞への分化について

コントロール及び虚血7日後にBrdUを腹腔内投与して、1ヵ月後にラットを灌流固定、作成した脳切片を抗BrdU抗体および成熟神経細胞のマーカーとして抗neuronal nuclear phosphoprotein (NeuN)抗体、抗microtubule associated protein 2 (MAP2)抗体および星状グリア細胞のマーカーとして抗GFAP抗体を用いて二重免疫蛍光染色に供した。

【成績】

1) 虚血7日後に非虚血側海馬において、新生細胞は一過性にコントロールに比べて約7倍増加した。しかしながら非虚血側大脳半球の他領域においては新生細胞の有意な増加は認めなかった。

2) 非虚血側海馬において、虚血7日後の増加した新生細胞の79.8%は抗Msi1抗体陽性、18.3%が抗GFAP抗体陽性で大多数が神経幹細胞または神経前駆細胞と考えられた。その割合はコントロールと差はなかった。また非虚血側海馬において、虚血7日後に増加した新生細胞の76.7%は抗DCX抗体陽性であり、幼若な神経細胞の性質を有していると考えられた。

3) 1ヶ月後の非虚血側海馬において、新生細胞数自体はコントロール群に比し虚血群において有意に増加していた。しかし新生細胞の生存率は、コントロール群92.2%、虚血群21.9%と虚血群において著明に低下していた。

4) 非虚血側海馬において、増加した新生細胞は虚血1ヶ月後に73.2%が神経細胞に、11.2%が星状グリア細胞に分化していた。その割合はコントロールと差はなかった。

【総括】

本研究により、成熟ラット中大脳動脈閉塞後の非虚血側海馬における神経幹細胞または神経前駆細胞の増加、生存率、分化について以下のことが明らかとなった。

1) 中大脳動脈閉塞後、非虚血側海馬において、神経幹細胞または神経前駆細胞の分裂、増殖が一過性に亢進した。

2) 中大脳動脈閉塞後、非虚血側大脳半球の他領域においては増殖細胞の有意な変化は認めなかった。

3) 中大脳動脈閉塞後、非虚血側海馬での神経細胞新生の亢進は見られるものの、同部位での新生細胞の生存率は低下していた。

以上より脳梗塞後、遠隔領域である海馬では神経幹細胞または神経前駆細胞の分裂、増殖が亢進されるが、同部位での新生細胞の生存率は低下しており、わずかな神経細胞新生にとどまることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ラット中大脳動脈閉塞モデルを用いて、遠隔領域である非虚血側海馬における神経細胞新生の動態を検討したものである。各種の特異的または選択的なマーカータンパク質を用いて検討した結果、同領域での神経幹細胞または神経前駆細胞の増殖が一過性に亢進すること、増殖後の生存率が低下するものの神経細胞への分化が生ずることを明らかにした。中大脳動脈閉塞モデルにおいて、虚血遠隔領域である海馬での神経幹細胞または神経前駆細胞由来の神経細胞新生を初めて明らかにした研究であり、学位に値すると考える。