The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Implication of Cyclooxygenase-2 on Enhanced Proliferation of Neural Progenitor Cells in the Adult Mouse Hippocampus after Ischemia |
| Author(s) | 佐々木, 勉 |
| Citation | 大阪大学, 2003, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/43942 |
| 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

【18】

| | |
|---|---|
| 氏　　名 | 佐々木　　勉（ささき　つとむ） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（医　学） |
| 学　位　記　番　号 | 第　17588　号 |
| 学位授与年月日 | 平成15年3月25日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当<br>医学系研究科情報伝達医学専攻 |
| 学　位　論　文　名 | Implication of Cyclooxygenase-2 on Enhanced Proliferation of Neural Progenitor Cells in the Adult Mouse Hippocampus after Ischemia<br>（成熟マウス海馬の虚血による神経前駆細胞増殖における Cyclooxygenase-2 の役割について） |
| 論　文　審　査　委　員 | （主査）<br>教　授　堀　　正二<br>（副査）<br>教　授　佐古田三郎　　教　授　吉峰　俊樹 |

## 論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

成熟脳においても海馬歯状回顆粒下層（subgranular zone ; SGZ）、側脳室下帯（subventricular zone）において、神経細胞新生は持続している。脳虚血は神経細胞新生を亢進させるが、その詳細なメカニズムは不明である。Cyclooxygenase-2（COX-2）は、中枢神経系においては、炎症過程、グルタミン酸毒性、シナプス可塑性など広範な作用に加えて、neuroblastoma、glioma において発現し、腫瘍における細胞増殖に関与していることが報告されている。一方、副腎ステロイドは、海馬歯状回顆粒下層における神経前駆細胞の増殖を負に調節している。副腎ステロイドは、COX-1 に影響を与えず、COX-2 の発現を抑制する。そこで、今回、マウス一過性前脳虚血モデルを用い、海馬 SGZ における神経細胞新生の動態を検討するとともに、SGZ における神経前駆細胞増殖における COX-2 の与える影響を検討した。

【方法】

雄性 C57Black/6 マウスを用い、両側総頚動脈閉塞モデルを作製。閉塞時間は 12 分間とした。虚血開始後最初の 1 分以内に脳血流が 13%以下になる動物のみを実験に使用した。BrdU を腹腔内投与し、(1)SGZ における BrdU 陽性細胞の虚血後の増殖、(2)海馬歯状回顆粒層における BrdU 陽性細胞の性質、分化を検討した。使用マーカーは、Musashi-1（Msi-1）：神経前駆細胞（神経幹細胞）、星状グリア細胞。Doublecortin（DCX）：neuroblast、幼若神経細胞。β-tubulinⅢ：幼若神経細胞。NeuN、MAP2：成熟神経細胞。GFAP：星状グリア細胞。

COX-2 の神経前駆細胞増殖に与える影響を検討するため、まず虚血後の COX-2 の発現様式を検討した。次に Indomethacin（COX-1/COX-2 inhibitor）、又は NS-398（COX-2 selective inhibitor）を投与し、海馬 SGZ における神経前駆細胞増殖について検討。更に COX-2 knockout mice を使用し検討を加えた。

【成績】

1．　両側総頚動脈閉塞術後、海馬 SGZ において 7－10 日後をピークとした BrdU 陽性細胞の増殖を認めた。BrdU 陽性細胞の性質、分化状態の検討では、BrdU ラベル 1 日後では対照、虚血群ともに BrdU 陽性細胞の多くは、

Msi-1 陽性かつ GFAP 陰性であり神経前駆細胞であると考えられた。ラベル 14 日後には BrdU 陽性細胞は、幼若神経細胞マーカーである β-tubulinⅢを発現し、30 日後には両群ともに 80%以上が成熟神経細胞に分化していた。一方星状アストログリアに分化したものは両群とも少数であった。

2． 虚血 10 日後において、海馬歯状回では COX-2 は、神経細胞並びに反応性アストログリアにて発現を認め、SGZ に存在する神経前駆細胞では検出されなかった。

3． Indomethacin、NS-398 投与にて、対照群では差は認めなかったが、虚血群では両者とも有意に BrdU 陽性細胞の増殖を抑制した。

4． 本モデルにおける海馬 CA4 神経細胞障害については、COX-2 knockout mice と wild 群とでは、有意差は認めなかった。COX-2 knockout mice における神経前駆細胞増殖について、非虚血対照群にて－/－、+/－ knockout mice は、wild type に比して BrdU 陽性細胞の増殖は少ない傾向にあるが、有意差は認められなかった。一方－/－、+/－ knockout mice は、wild type に比し、虚血後の BrdU 陽性細胞の増殖は、有意に抑制されていた。

【総括】

マウス一過性前脳虚血後、海馬歯状回顆粒層においては、神経前駆細胞は一過性増殖を示し、残存したものは多くが神経細胞に分化した。COX-2 阻害薬投与、COX-2 knockout mice にて虚血後の神経細胞増殖は有意に抑制された。虚血後海馬歯状回において、COX-2 は、神経細胞、反応性アストログリアにて発現し、神経前駆細胞には検出されなかった。COX-2 は、海馬 SGZ における虚血後神経前駆細胞増殖の重要な modulator であることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

成熟脳においても海馬歯状回顆粒下層（subgranular zone ; SOZ）、側脳室下層（subventricular zone ; SVZ）において、神経幹細胞、神経前駆細胞由来の神経細胞新生が持続的に認められる。脳虚血により神経細胞新生は亢進し、神経栄養因子の関与などがすでに報告されているが、その詳細な機序は未だに不明である。

本研究は、マウス一過性前脳虚血モデルを用い、Cyclooxygenase-2（COX-2）が、虚血後の海馬における、神経前駆細胞の増殖に関与していることを示したものである。COX-2 は中枢神経系においては、海馬、大脳皮質を中心に恒常的な発現を認め、脳虚血により、更に発現が増強する。その役割として、炎症過程に加え、シナプス可塑性などにも関与していることが知られている。

本研究では、COX-2 阻害薬、COX-2 knockout mouse を用いて、虚血後の海馬歯状回顆粒下層における神経前駆細胞の増殖に、COX-2 が関与していることを証明した。又、近年、in vitro の系にて、神経幹細胞と神経細胞との共培養よりも、アストログリアとの共培養が神経細胞新生を誘導したとの報告や、ラット中大脳動脈閉塞後の線条体における神経細胞新生の誘導に、反応性アストログリアが重要であるとの報告もなされている。本研究においても、成熟脳海馬歯状回における神経細胞新生における、反応性アストログリア細胞の重要性を支持しているとともに、反応性アストログリアにおいて発現している COX-2 が、神経細胞新生を誘導する因子の１つである可能性も示唆されている。

本研究は、虚血後の海馬における神経細胞新生亢進に COX-2 が関与するという、全く新たなメカニズムを証明したものであり、脳血管障害に対する再生治療を考える上で、新たな観点を示唆したものと評価でき、学位に値すると考える。