Osaka University Knowledge Archive

Title	Profile of Gene Expression in the Subventricular Zone after Traumatic Brain Injury
Author(s)	吉矢, 和久
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45251
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名　吉　矢　和　久（よし　や　かず　ひさ）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　18510　号

学位授与年月日　平成16年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

医学系研究科生体統合医学専攻

学位論文名　Profile of Gene Expression in the Subventricular Zone after Traumatic Brain Injury
（頭部外傷後の側脳室周囲における遺伝子発現の解析）

論文審査委員　（主査）
教　授　杉本　壽

（副査）
教　授　吉峰　俊樹　　教　授　佐古田三郎

論文内容の要旨

〔目的〕

損傷後の中枢神経において神経再生が起こることが最近報告されつつある。しかし、その神経再生は非常に限られたものであり、有効な神経再生とは言えない。我々は哺乳類成体の中枢神経系に内在する神経幹細胞の再生能力を利用し、損傷後の中枢神経、特に頭部外傷後の中枢神経に有効な神経再生を起こすことを考えている。その為には、頭部外傷後の神経幹細胞を制御する分子生物学的メカニズムを解明する必要がある。本研究の目的は、成体の中枢神経系に存在する神経幹細胞の頭部外傷後の動向を把握し、その分子生物学的制御機構を解明することである。

〔方法〕頭部外傷モデルとして Cortical impactor を用いたラットの機械的脳挫傷モデルを使用した。

① 頭部外傷モデルラットに bromodeoxyuridine（BrdU）を腹腔内投与し、神経幹細胞の存在する側脳室周囲、海馬歯状回における損傷後の増殖細胞を、免疫組織染色法を用いて解析した。損傷後、1、4、7、14日の増殖細胞の数を経時的に解析、BrdU の投与は、ラットを固定する24時間前、量は150 mg/kg とした。これにより、損傷後14日までの、BrdU 投与から固定までの24時間の細胞増殖を測定した。

② 次に①で細胞増殖のピークであった外傷4日目の外傷側側脳室周囲組織から mRNA を抽出し、cDNA マイクロアレイ法を用いて遺伝子発現を解析した。個体差をなくすため、sham operated 群と外傷群それぞれ n=8 ずつのラットから側脳室周囲組織を摘出し、それを一検体にまとめて hybridization を行った。

③ cDNA マイクロアレイ法の結果を確認するため、発現の上昇が見られたいくつかの遺伝子について RT-PCR を行い、発現差異を確認した。

④ cDNA マイクロアレイ法、RT-PCR で発現に有為差の見られた遺伝子について in situ hybridization を行い、側脳室周囲での発現差異を確認した。

〔成績〕

① 頭部外傷後、両側の側脳室周囲、海馬歯状回において BrdU 陽性細胞の増殖が認められ、神経幹細胞の増殖が示唆された。増殖は外傷後4日目をピークとし、側脳室周囲については外傷後 14 日目まで両側性の増殖が認められた。

② 頭部外傷後の側脳室周囲での細胞増殖、分化、損傷部位への遊走を制御するメカニズムを解明するため、側脳室周囲における外傷後の遺伝子発現を解析した。cDNA チップにスポットされた 9596 遺伝子のうち、97 遺伝子の発現上昇、204 遺伝子の発現低下が確認された。

③ cDNA マイクロアレイ法で発現上昇の見られた 97 遺伝子のうち、calmodulin2、gelsolin、MARCKS-like protein、cornichon-like、metallothionein3、bcl-2 homologous antagonist/killer、discs large homolog4、neurochondrin、nasal embryonic LH-RH factor について発現上昇を RT-PCR で確認した。

④ RT-PCR で発現上昇を確認した calmodulin2、gelsolin、MARCKS-like protein、metallothionein3 について in situ hybridization を行い、側脳室周囲での発現上昇の局在を確認した。

〔総括〕

① 成体ラット頭部外傷モデルにおいて、外傷後両側の側脳室周囲、海馬歯状回における神経前駆細胞の増殖が示唆された。増殖した神経前駆細胞は、損傷部位での有効な神経再生には寄与していないと考えられた。

② 外傷後の側脳室周囲において、cDNA マイクロアレイ法により 9596 遺伝子のうち 97 遺伝子の発現上昇、204 遺伝子の発現低下が認められ、外傷後の神経前駆細胞を制御する遺伝子の候補をプロファイリングすることが出来た。

我々は、今回得られたプロファイリングをもとに外傷後の神経前駆細胞を制御する分子生物学的メカニズムを解明し、内在性神経幹細胞を利用した神経再生へつなげようと考えている。

論文審査の結果の要旨

哺乳類成体の中枢神経には増殖能・多分化能をもつ神経幹細胞が存在する。これらの神経幹細胞は側脳室周囲、海馬歯状回にあり、成体におけるニューロン新生の源になっている。しかしながら、神経幹細胞は中枢神経損傷後の神経再生にあまり寄与していないように思われる。申請者は、頭部外傷モデルラットの側脳室周囲、海馬歯状回にある神経前駆細胞の外傷後の動向を検討。外傷後これらの領域において神経前駆細胞が増殖すること、受傷後 14 日目までは増殖した神経前駆細胞は損傷部位の神経再生に寄与していないことを示した。更に、その背景にある神経幹細胞を制御するメカニズムの解明を目的とし、cDNA マイクロアレイ法を用いて頭部外傷後の側脳室周囲での遺伝子発現の変化を解析し、そのデータをプロファイリングしている。この研究結果は、今後の神経前駆細胞の理解、更には、外傷後の神経機能回復へとつながるものであり、学位の授与に値すると考えられる。