

## 審査の結果の要旨

氏名 小森 潔

本研究は神経回路形成及びその再構築(神経可塑性)に関与していると考えられる細胞外基質分解酵素、膜型マトリックスメタロプロテアーゼ 5(MT5-MMP)の生体内における機能を明らかにするため、遺伝子欠損マウスを作製しこれを用いて解析試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. MT5-MMP 遺伝子欠損マウスを用いて各種の行動学試験を行い、MT5-MMP の高次脳機能への関与について解析した。

(1) 運動協調性についてロータロッド試験により解析したところ、3 分間の試験で落下した回数が野生型マウスに比べ有意に減少し、運動能力の向上が認められた。このことから MT5-MMP 遺伝子欠損マウスは小脳の機能に異常を有していることが明らかとなった。

(2) T 型水迷路試験で水泳能力を確認するために直線水路によりゴール到達所要時間を測定した。水泳しようとする行動がほとんど認められず、野生型マウスに比べゴール到達所要時間が有意に増加した。しかし泳ぎ方及び泳ぐスピードに関して、測定者から触発されるという条件下では野生型マウスと同等の水泳能力を有することが確認された。このことから、水泳能力そのものには異常はないが、自発的あるいは積極的に水泳しようとする意志が欠如しており、水というストレスに対する反応性が低下していることが明らかとなった。

(3) 活動量及びサーカディアン・リズムに関して解析するために自発運動量を測定した。24 時間の自発運動パターンは野生型と同様であったが、自発運動量は 24 時間全体で減少している傾向が認められた。明期及び暗期それぞれについて比較したところ、両期間において有意に減少した。また Light/Dark 比率では、雌雄ともに減少傾向であり、雄では有意に減少した。このことから、サーカディアン・リズムは正常であるが、自発運動量が低下しており、特に明期において顕著であることが明らかとなった。

これら一連の行動学解析により MT5-MMP 遺伝子欠損マウスは一部の高次脳機能に異常を有していることが明らかとなり、MT5-MMP は高次脳機能に関与してい

ることが示された。

2. MT5-MMP 遺伝子欠損マウスを用いて神経因性疼痛モデルの一つである坐骨神経切断モデルを作成し、MT5-MMP の神経因性疼痛への関与について解析した。行動学試験(アセトン刺激試験及び von Frey 試験)により冷刺激及び圧刺激に対する疼痛行動について解析した結果、MT5-MMP 遺伝子欠損マウスは坐骨神経切断後において冷アロディニア及び機械刺激性アロディニアの症状を呈さないことが明らかとなり、MT5-MMP は神経因性疼痛の発症に深く関与していることが示された。

3. 坐骨神経切断後では脊髄後角内において感覚回路網の可塑的变化が観察されている。HRP(Horse radish peroxidase)標識コレラ毒素 B サブユニット(CTB-HRP)を用いて末梢体性神経をラベルして組織学的解析を行い、MT5-MMP の形態的变化を伴う神経可塑性への関与について解析した。CTB-HRP 水溶液を坐骨神経中枢側切断端から注入し、脊髄を摘出して HRP による染色を行った。MT5-MMP 遺伝子欠損マウスの坐骨神経切断側後肢の坐骨神経への CTB-HRP 注入では、偽手術側後肢の場合と同様に脊髄後角のⅢ層からⅥ層のみが染色されており、野生型マウスの坐骨神経切断側後肢で確認されたⅠ層からⅥ層における染色は認められなかった。MT5-MMP 遺伝子欠損マウスでは坐骨神経切断後の A $\beta$ 線維終末部のⅡ層への軸索発芽は認められないことが明らかとなり、MT5-MMP は A $\beta$ 線維の軸索発芽に関与していることが示された。

以上、本論文は MT5-MMP 遺伝子欠損マウスの行動学試験により、MT5-MMP は高次脳機能に一部関与していること、また神経因性疼痛モデルの解析により、MT5-MMP は神経細胞の形態的变化を伴う可塑性に関与していることを示した。この知見は神経因性疼痛に細胞外基質分解酵素が関与していることをはじめて示したものであり、神経因性疼痛に対する治療法開発上の分子的な基礎になるものと期待され、学位の授与に値するものと考えられる。