

[別紙 2]

審査結果の要旨

氏名 米倉 一郎

本研究は虚血性神経細胞死の機序解明し治療法を確立するため、新たな手段としてマウス全脳虚血モデルの作成を試みた Part 1 および、同モデルを p53 遺伝子欠損マウスに応用し、得られた結果から p53 の虚血性神経細胞死における役割を検討した Part 2 の 2 部から構成されており、下記の結果を得ている。

Part 1

遺伝子変異動物を作成する際に利用される、C57BL/6 および SV129 の両系統において、両側総頸動脈と脳底動脈の 3 血管を閉塞した結果、C57BL/6 マウスでは 14 分の虚血で海馬 CA1 領域に均一で再現性のある神経細胞死を引き起こすモデルを確立した。一方、SV129 マウスでは同等の虚血侵襲では同様の結果を認めず、系統間に虚血脆弱性に差があることが示唆された。この事実により、遺伝子変異動物を用いる虚血実験においては、戻し交配を行うことの重要性が示された。

Part 2

C57BL/6 系統へ 12 回の戻し交配を行った p53 遺伝子欠損 ($p53^{-/-}$) マウスと野生型 C57BL/6 ($p53^{+/+}$) マウスに確立したモデルを応用し、海馬 CA1 領域において神経損傷を評価したところ、 $p53^{-/-}$ マウスの方が $p53^{+/+}$ マウスより損傷が軽度であった。脳血流あるいは生理学的パラメーターにおいて両群に有意差を認めなかったこと及び、背景遺伝子が結果に影響を与えた可能性が低いことより、得られた神経損傷の差は p53 遺伝子の存在と非存在によることが示された。

野生型 p53 抗体を用いて、免疫組織化学を施行したところ、非虚血動物や $p53^{-/-}$ マウスでは免疫反応を認めなかったが、虚血動物では手術後 6 時間から海馬 CA1 領域において免疫反応の発現を認め 12 時間後に発現の増強が観察され、虚血後に p53 タンパク質が変化していることが示された。p53 が可視化されるようになった 1 つの機序として、虚血後海馬において (mRNA) p53 が増加していることから、タンパク質量が増加した可能性が示唆された。

虚血後 (mRNA) Bax が p53 の免疫発現に一致して増加しており、この結果は Bax が p53 により制御されている事実に矛盾しないことから、虚血後海馬に転写活性を有する p53 の存在が示唆された。

以上より本論文は Part 1 では、遺伝子変異動物を利用し虚血性神経損傷の分子機構を解明する上で非常に有益であると考えられるモデルを確立し、Part 2 では虚血神経損傷における p53 の役割を *in vivo* において解明し、この分子が虚血治療の目標の 1 つになることを示した。本研究は、臨床的に非常に多くの背景人口を有する虚血性脳損傷において、機構の解明および治療法の開発に重要な貢献をなすと考えられる動物モデルを確立し、また同モデルを p53 遺伝子変異動物に応用したことで p53 が虚血性神経細胞死における重要な分子である可能性を導き出しており、学位の授与に値するものである。