

## [課程一 2]

### 審査の結果の要旨

氏名 吉河 学史

本研究は虚血損傷後における線条体神経細胞の再生および修復現象を明らかにするため、ラットの全脳虚血モデルを用いた系において、線条体に虚血巣が形成された後に成長因子を投与することで回復する神経細胞の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 一過性全脳虚血モデルを用いて2日後には元の線条体神経細胞数の約2%にまで成熟神経細胞の減少をみた後に、成長因子を投与することで6週後には約15%の回復がみられることを形態学的かつ免疫組織学的にも示された。これら回復した神経細胞の実体として増殖分裂細胞を標識する BrdU や、細胞の増殖分裂を阻害する Ara-C を用いた実験により脳室下帯 (SVZ) に存在する神経前駆細胞が成長因子の投与により活性化されて増殖、分裂を行い、さらに遊走を経て成熟した神経細胞へと再生してきたものが少なくとも半数は含まれている可能性の高いことが示された。
2. BrdU で標識された再生神経細胞が正常線条体神経細胞の大部分を占める medium spiny neuron へと部位特異的 neuronal phenotype に分化を遂げて再生していることを示した。また、回復した神経細胞数の動向を解析すると虚血6週~12週の間で線条体における各 neuronal phenotype の数は増減を示しており、いまだ虚血損傷からの修復もしくは再生機構が進行中であることが窺われた。
3. 虚血後12週には逆行輸送性の蛍光トレーサーである Fluorogold が淡蒼球から線条体へ輸送され、線条体の再生神経細胞が本来の投射先である淡蒼球へ軸索を伸ばして既存の神経回路に形態学的に組み込まれていることが示された。
4. 虚血後に回復がみられた線条体神経細胞を電気生理学的にパッチクランプ法を用いてホールセル記録を行った結果から、虚血後6~10週に得られた線条体神経細胞の膜電位及び膜抵抗は有意に未熟な神経細胞の性質を示し、その後虚血から10週を過ぎて次第に成熟していく過程が経時的にみられることが示された。これは、新生児ラットの線条体 medium spiny neuron の成熟過程と類似することから再生神経細胞の電気生理学的発達過程を支持するものである。また虚血後16週に記録されたシナプス電流の解析からは興奮性、抑制性、両方のシナプス入力形成されており機能的であることが示されている。
5. 個体レベルでの機能回復評価として、ラット前肢の運動機能を測る Staircase test の結果から、虚血損傷後に成長因子を投与することで、投与しなかった群と比較すると虚血後6週以降に有意な回復がみられることが示された。

以上、本論文はラットの虚血損傷後の線条体において成長因子を投与することで神経細胞が回復することを示し、その中には神経幹細胞からの再生した神経細胞が存在することを明らかにしている。また、電気生理学的評価や行動実験の結果から成長因子投与による機能的回復の可能性も示されている。本研究から、虚血性脳障害治療戦略のひとつとして内在性神経幹細胞の賦活化が今後期待できると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。