

二宮 省悟 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

扁桃体キンドリングにより高められる成体マウス大脳新皮質での GABA 作動性ニューロン産生
(GABAergic neuron production in the adult mouse neocortex induced by amygdala kindling)

高等哺乳類の成体中枢神経系は自己再生能をもたないと長らく信じられてきたが、脳の一部で継続的に神経細胞が産生されることが発見されて以来、成体の中枢神経系における神経新生現象は、脳神経科学一般のみならず、脳・脊髄の損傷、疾患治療のための再生医療の観点から大きな注目を集めている。しかし、その詳細や全貌はまだ十分に明らかにされていない。申請者は、扁桃体キンドリングによる癲癇重積発作モデルマウスを用いて、成体の大脳新皮質における神経新生の実態を明らかにする目的で研究をおこなった。

まず、脳の扁桃体部に電極を挿入し、定期的に電気刺激を与えることで癲癇様発作を発症するマウスモデルを確立した。この方法によって脳にストレスを与えることで細胞死を引き起こし、活性化される神経前駆細胞を探索した。解析方法として、神経前駆細胞に特異的な nestin 等の各種マーカー分子の発現、および細胞増殖マーカーとしての BrdU の取り込み等の免疫組織化学的手法に加え、神経前駆細胞とその細胞系譜を時期特異的に標識可能な遺伝子改変マウス

(*Nestin-CreER²/floxed-stop-GFP*) による遺伝学的手法を組み合わせを行った。その結果、電気刺激を与えた個体群では、大脳皮質実質と軟髄膜で nestin 陽性の増殖性細胞の増加が認められた。さらに、軟髄膜に分布する nestin 陽性の神経前駆細胞は、増殖後 GABA 作動性の抑制性神経細胞へと分化することを確認した。キンドリングの結果、大脳皮質実質内に新生した抑制性神経細胞が増加したことから、軟髄膜に由来する抑制性神経細胞が大脳新皮質内へと移動する可能性を示唆した。次に、癲癇重積発作に対する nestin 陽性となった細胞の生理的意義を検討するために、遺伝子改変マウス

(*Nestin-CreER²/NSE-floxed-stop-DTA*) を用い、タモキシフェン投与によって新生 nestin 陽性細胞を選択的に除去したときの癲癇症状の変化を調べた。その結果、癲癇発作が有意に重篤化することが明らかとなり、成体での神経新生が脳障害の修復、保護に寄与している可能性が示された。

審査では、癲癇の発症メカニズムについての最新知見、nestin の免疫染色の有意性、脱分化が関与する可能性、薬剤を用いた実験手法の検討、新生神経細胞の除去による癲癇症状の重篤化に関する他のメカニズムの関与、コントロール実験の詳細および注意、扁桃体キンドリングによる神経新生の誘導と癲癇との因果関係、軟髄膜に検出された神経幹細胞の由来、細胞死の有無、大規模な損傷の修復がおこらない理由等、様々な質疑が行われたが、申請者からおおむね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、脳障害下の成体哺乳類の大脳における神経新生の実態とその役割を明らかにする手がかりを与えたものであり、特に軟髄膜という新たな神経幹細胞源に関する新知見をもたらしたという点で、学位論文にふさわしい意義ある研究と評価された。

審査委員長 脳発生学担当教授

嶋 打 健 児