

論文審査の結果の要旨

氏名 能智 禄弥

マウスの脳梗塞モデルなどを用いて、神経幹細胞の増殖亢進に関する研究を実施した。論文は、3章から構成されている。第1章において、このマウスの海馬脳波を慢性記録し、そのデータを解析した結果を示した。そして、脳波活動を抑える薬剤を用いることにより、脳梗塞後に高まる海馬神経幹細胞の増殖亢進が消失する事を見出した。第2章においては、この細胞応答現象の分子メカニズムの解析を行った。脳梗塞後に、脳波活動が高まることにより、海馬組織内でグルタミン酸の放出量が増加し、代謝型グルタミン酸受容体5型を介して、この細胞の増殖が亢進していることを認めた。この1章と2章の結果から、神経幹細胞は神経活動に依存しその増殖が亢進する事象を発見した。さらに、巻末の第3章において、運動依存的に神経幹細胞が増殖する際にも、この事象「活動依存的な増殖促進メカニズム」があることを認めた。

成体の脳でも記憶に関わる海馬歯状回では新しく神経細胞が生み出され、既存の神経回路に組み込まれる事が分かってきた。この新生神経細胞は、脳が担う記憶や学習などの高次機能に対して貢献している事が示されてきている。この新生神経細胞の母細胞となる神経幹細胞は、様々な環境要因によってその細胞増殖が促進される事が知られている。例えば、“自発運動”や“豊かな刺激の多い環境”などの生理学的な環境や、“脳梗塞”や“てんかん”などの病態学的な状況である。しかしながら、これらの環境要因が、どのようなメカニズムを介して、神経幹細胞の増殖を促進するかについてはわかっていなかった。

本研究では、海馬神経活動と神経幹細胞の増殖に因果関係があるとの研究仮説に基づき、研究を実施した。まずこの仮説の検証を行い、つぎに、海馬神経回路が活性化した場合に神経幹細胞が受け取るシグナルの実態を調べた。また本研究では、シーター波と呼ばれる海馬で見られる特徴的な神経活動パターンについて、その海馬神経幹細胞の増殖との関連性についても解析を行った。

第1章において、*in vivo* 条件下において海馬の歯状回部位の神経活動を記録するために、自作した電極を埋め込み、マウスに脳梗塞手術を施し、その後の海馬神経活動の変

化を測定した。脳波データを数理的に解析することにより、梗塞半球側の海馬での特異的な海馬神経活動の高まりを確認した。また、この脳梗塞マウスに神経活動を抑制する作用を持つ **Diazepam** を投与する事により、脳梗塞後の神経幹細胞の増殖亢進が消失することを見出した。これらの実験事実から、脳梗塞後の神経幹細胞の増殖亢進は、海馬神経活動の高まりによって引き起こされている事を認めた。

第2章においては、この増殖亢進の分子メカニズムの解明を行った。神経活動の高まりにより、グルタミン酸の放出量が増加することが知られていたため、神経幹細胞上に発現するグルタミン酸受容体の特定から研究を行った。免疫染色法及び **in situ hybridization** 法を用いて解析を行った結果、代謝型グルタミン酸受容体の一種である **metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5)** が神経幹細胞上に発現していることを認めた。そのほかのグルタミン酸受容体については、その発現を裏付ける証拠はこれまでに得られてはいない。そこで、**mGluR5** を介して、神経幹細胞が刺激され、その増殖が亢進することを確認するために、海馬スライスを用いた研究を行った。この海馬スライスを電極により刺激すると神経幹細胞が活性化しその増殖が亢進したが、**mGluR5** 受容体の阻害剤である **MPEP** により、これらの細胞応答が消失することを示した。さらに、**in vivo** 系で確かめるために、**mGluR5** の **Positive modulator** である **CDPPB** をマウスへ投与したところ、神経幹細胞の増殖が亢進することを確認した。最後に、脳梗塞マウスに **MPEP** を投与することにより、神経幹細胞の増殖亢進が消失することを見出した。これらの結果から、脳梗塞後の神経幹細胞の増殖が亢進するメカニズムに、神経幹細胞上の **mGluR5** 受容体を介した細胞刺激があることを論考した。

第3章においては、自発運動後の神経幹細胞の増殖更新における神経活動の影響に関して、海馬シーター波への抑制作用をもつカンナビノイド受容体アゴニスト **CP55940** を用いた研究を実施した。この結果、**CP55940** により運動時の海馬 θ 波の発生を抑えると運動後の神経幹細胞の増殖亢進が消失することを見出した。これらのことより、運動後にも、活動依存的なメカニズムにより神経幹細胞の増殖が亢進することを発見した。

以上のように、本研究は論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上1880字