

氏 名	新 田 直 樹
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 (論) 第 3 5 7 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 0 年 9 月 1 0 日
学 位 論 文 題 目	<p>Granule cell dispersion develops without neurogenesis and does not fully depend on astroglial cell generation in a mouse model of temporal lobe epilepsy</p> <p>(マウス側頭葉てんかんモデルにおいて顆粒細胞分散の進行に神経細胞の新生は必要ではなく、また星状膠細胞の新生にも完全には依存しない)</p>
審 査 委 員	主 査 教 授 木 村 宏
	副 査 教 授 山 田 尚 登
	副 査 教 授 陣 内 皓 之 祐

論文内容要旨

*整理番号	361	(ふりがな) 氏名	にった なおき 新田 直樹
学位論文題目	Granule cell dispersion develops without neurogenesis and does not fully depend on astroglial cell generation in a mouse model of temporal lobe epilepsy (マウス側頭葉てんかんモデルにおいて顆粒細胞分散の進行に神経細胞の新生は必要ではなく、また星状膠細胞の新生にも完全には依存しない)		
<p>目的</p> <p>顆粒細胞分散は内側側頭葉てんかんの特徴的な形態学的変化の一つであり、これは海馬歯状回における神経細胞新生の異常増加に伴って生じる現象であると示唆する報告がなされてきた。しかしながら最近の臨床検体、あるいは動物モデルの実験において、神経細胞新生の減少が報告されており、神経細胞新生と顆粒細胞分散の関係はまだ議論のあるところである。今回の実験の目的は神経細胞および星状膠細胞の新生が顆粒細胞分散の形成においてどのような役割を果たすかについて解明することである。海馬内にカイニン酸注入により形成されたマウスの内側側頭葉てんかんモデルを用い、1) 若年動物において病変作成後の神経細胞新生の経時的変化の検討、2) 神経前駆細胞数が著しく減少していることが知られている i) 老齢および ii) 放射線照射動物を用いての、神経前駆細胞減少状態からの病変形成が顆粒細胞分散に与える影響の検討、そして 3) 星状膠細胞新生の顆粒細胞分散に与える影響の検討を行った。</p> <p>方法</p> <p>定位的手術によりカイニン酸を 1) 若年マウス、2) 老齢マウス、3) 放射線照射マウスの右側背側海馬内に注入、内側側頭葉てんかんモデルを作成した。術後 3 日目、7 日目、14 日目、35 日目に灌流固定を行った。一部の動物には新生細胞を標識するために Bromodeoxyuridine (BrdU) を投与した。投与群では 1) 手術当日から、術後 7 日目まで BrdU の腹腔内注射を 1 日 1 回行い、術後 14 日目に灌流固定、あるいは 2) 術後 3 日目にのみ 4 回 BrdU の腹腔内注射を行い、最終投与 3 時間後に灌流固定を行った。冠状断にて海馬部分の浮遊切片を作成し、幼若神経細胞のマーカーである DCX および NeuroD の免疫組織化学染色および蛍光免疫染色を行い、陽性細胞数の経時的変化を調べた。BrdU 投与 1) 群では成熟神経細胞のマーカーである NeuN と星状膠細胞のマーカーである GFAP、および BrdU の蛍光 3 重免疫染色を行い、新生細胞が神経細胞、星状膠細胞あるいはそれ以外の細胞に分化したかを調べた。BrdU 投与 2) 群では</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続 紙)

microglia のマーカーである Lectin の組織化学染色と BrdU の免疫染色による蛍光 2 重染色を行い、新生 microglia の検討を行った。また 3 群において術後 7 日後、14 日後、35 日後における顆粒細胞層の厚さの対側に対する比率を算出し、群間での比較を行った。

結果

若年マウスでは海馬内へのカイニン酸投与後、顆粒細胞分散進行に伴い、海馬歯状回での DCX および NeuroD 陽性細胞は減少し、2 週間にはほとんど存在しなくなった。また BrdU 陽性の新生細胞の多くは星状膠細胞あるいは microglia に分化し、神経細胞に分化するものは極めて少数であった。老齢マウス、放射線照射マウスでは、病変形成前には DCX および NeuroD 陽性細胞は僅かしか認めず、BrdU 陽性細胞も僅かしか認めなかった。しかしながら海馬内へのカイニン酸投与後、顆粒細胞分散は若年マウスと同様に進行した。この病変進行の間、DCX および NeuroD 陽性細胞は減少、あるいはほとんど存在を認められなくなった。老齢マウス、放射線照射マウスではカイニン酸投与後共に BrdU 陽性細胞の著明な増加を認め、特に老齢マウスでは若年マウスとほぼ同数の陽性細胞を認めた。放射線照射マウスでも陽性細胞は増加したが、その数は若年マウス、老齢マウスの 40% 程度であった。これら BrdU 陽性細胞の半数程度は星状膠細胞に分化していたが、放射線照射マウスでは若年マウス、老齢マウスと比較して有為に新生星状膠細胞は少なかった。

考察

内側側頭葉てんかんでは病変形成期に神経細胞新生が増加することが報告されているが、われわれの動物モデルでは神経細胞新生は減少し、顆粒細胞分散は進行した。この結果は近年の臨床検体からの報告と合致しており、顆粒細胞分散は新生神経細胞からでなく、既存の顆粒細胞が引き起こす現象であると示唆された。カイニン酸投与前の神経細胞新生がほとんどない老齢および放射線照射動物でも顆粒細胞分散が術前の神経細胞新生が多く認められる若年マウス同様進行することから、カイニン酸投与直前の新生神経細胞が顆粒細胞分散を引き起こす可能性も否定的であった。新生星状膠細胞が顆粒細胞間を押し広げて顆粒細胞分散を引き起こす可能性については、カイニン酸投与後どの動物群でも星状膠細胞新生の増加を認めており、顆粒細胞分散との関連が示唆されたが、放射線照射マウスでは新生星状膠細胞数は他の群と比較して有意に少なく、このことから新生星状膠細胞が顆粒細胞分散の原因としても強い星状膠細胞新生の増加は必要ないことが示された。

結論

顆粒細胞分散は神経細胞新生が存在しない状態でも豊富に存在する状態と同様に進行した。さらに顆粒細胞分散は星状膠細胞新生の程度によらず同様に進行した。これらのことから細胞新生は顆粒細胞分散においては重要な要素ではないことが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	361	氏名	新田直樹
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨)</p> <p>本研究は、側頭葉てんかんの病態形成には異常な神経細胞新生が必須であるという従来の学説に疑義をいただき再検討したものである。海馬内カイニン酸投与てんかんモデルを用い、成熟・老齢・放射線照射マウスにおける新生神経細胞およびグリア細胞を定量形態学的に解析したところ、歯状回顆粒細胞分散の発現には神経細胞新生は必要なく、アストログリアの増生も必須ではないことが立証された。</p> <p>本研究は、側頭葉てんかんの病態および病因を解明し、新たな治療への手掛かりを与えたものと考えられ、博士(医学)の授与に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(平成20年 8月 27日)</p>			