

氏名・(本籍)	金子 雅 春 (愛知県)
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士第275号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成10年3月24日
学位論文題目	Expression of platelet-derived growth factor after transient forebrain ischemia in the gerbil hippocampus (一過性前脳虚血後の砂ネズミの海馬における血小板由来増殖因子の発現)
	審査委員 主査 教授 島 田 司 巳
	副査 教授 木 村 博
	副査 教授 服 部 隆 則

論文内容の要旨

【目 的】

血小板由来増殖因子 (PDGF) は間葉系およびグリア細胞に対する増殖因子であり、発達、腫瘍発生および粥状硬化症の成立に重要な役割をはたす。他方、脳の広範な部分でPDGFおよびその受容体の豊富な発現が見られる。しかし、障害脳における役割は明らかにされていない。申請者は脳で発現されるPDGF-Bの役割を明らかにするために、一過性の前脳虚血を誘導した砂ネズミの海馬におけるPDGF-Bの発現を調べ、虚血後の選択的な神経細胞死の発生におけるその役割を検討した。

【方 法】

体重60-80gの雄性砂ネズミを用い、1.5-2.0%ハロセン麻酔下にて両側頸動脈を5分間閉塞し、一過性前脳虚血を誘導した。術中とその後30分間、体温を37.5度に維持した。再灌流後6、12時間、1、2、3、7日目に脳を取り出し、海馬についてNorthern blottingと組織学的検索を行った。組織学的検索には、メチルカルノワ固定後に冠状断切片を作製した。PDGF-Bの発現は、免疫組織化学とRNAプローブを用いたin situ hybridizationにより検討した。

【結 果】

正常海馬でのPDGF-Bの免疫染色性はCA1、CA3、歯状回の神経細胞に認められた。CA1とCA3神経細胞の免疫染色性は歯状回より強く観察された。一過性の前脳虚血後には、神経細胞死が起こるCA1神経細胞では、PDGF-Bの免疫染色性が虚血6時間目で有意に減少し、12時間目に消失した。虚血後3、7日目では変性したCA1の神経細胞に再びPDGF-Bの弱い免疫染色性が出現した。少数のRCA-1陽性細胞が虚血3日目のCA1に観察されたが、これらの細胞にはPDGF-Bの発現は見られなかった。一方で、神経細胞死が生じないCA3神経細胞と歯状回では実験を通じてPDGF-Bの免疫染色性は維持された。

Northern blottingにより正常海馬では3.5と2.6kbのPDGF-BのmRNAの発現を認めた。虚血6時間目をピークとして両mRNAの一過性増加がみられた。その後mRNAは減少し、3日以降正常レベルとなった。PDGFの β および α 受容体、PDGF-AのmRNAはいずれも一過性の軽度の増加を示した。

正常海馬のin situ hybridizationにおいて、PDGF-BのmRNAはCA1、CA3、歯状回の神経細胞体と細胞突起の一部に発現していた。CA3神経細胞ではCA1や歯状回より豊富な発現が観察された。PDGF-BのmRNAは虚血6時間目から1日目にCA1神経細胞にて一過性に増加したが、2日目に減少し、7日目では消失した。CA3神経細胞のPDGF-BのmRNAは虚血後も維持され、7日目では増加した。

【考 察】

一過性前脳虚血後に神経細胞死が生ずるCA1で選択的なPDGF-B蛋白発現の消失であり、一方、

虚血後も神経が生存しているCA 3や歯状回ではPDGF-B蛋白は保存されていた。したがって、本研究から、PDGF-B発現と虚血に対する神経細胞の脆弱性の関連が明らかとなった。神経細胞におけるPDGF-B発現の違いが、虚血後選択的に観察される遅延型神経細胞死の基礎的機序であることを示唆するものである。

虚血7日目にはCA 1のPDGF-BのmRNAは消失するものの、Northern blottingにより示される海馬全体におけるmRNAは正常レベルに保たれた。この結果は、in situ hybridizationの結果と共にCA 3と歯状回のPDGF-BのmRNAが増加したことを示している。

PDGF-Bの免疫染色性は虚血7日目に変性したCA 1神経細胞にて再度出現した。これらの細胞ではmRNAは消失しており、蛋白が合成されたとは考えられない。

PDGF-Bは、これまでin vitroの実験で抑制系神経伝達物質であるGABAの合成を誘導したり、神経細胞死に関与するNMDA受容体の活性化を抑制することが報告されており、PDGF-Bは虚血後の神経細胞死を抑制している可能性が考えられる。

近年、アポトーシスが一過性前脳虚血後の神経細胞死の機序であると考えられている。PDGF-Bはアポトーシスを抑制することが示されており、CA 1における神経細胞死にはPDGF-Bの消失が関与していると考えられる。

【結 論】

一過性前脳虚血を誘導した砂ネズミの海馬において、部位により異なるPDGF-Bの発現が観察された。CA 1では神経細胞死に先行するPDGF-Bの発現低下があり、他方、神経細胞死の見られないCA 3ではPDGF-Bの発現増強が見られた。従って、PDGF-Bの低下が虚血後のCA 1における選択的な神経細胞死に関与し、他方、CA 3ではPDGF-Bの発現が神経細胞の保護に関与することを示している。

論文審査の結果の要旨

脳虚血に対する神経細胞における選択的脆弱性の機序を解明するため、砂ネズミの一過性前脳虚血モデルを用いて、血小板由来増殖因子(PDGF) B鎖の発現を調べ、その役割について検討した。海馬CA 1領域の神経細胞では虚血後6時間目にPDGF-B鎖が著明に減少し、虚血後12時間目以降に消失した。この海馬CA 1領域の神経細胞は3日目以降に遅発性神経細胞死に陥った。海馬のCA 3領域と歯状回の神経細胞では虚血後もPDGF-B鎖は維持され、これらの神経細胞は生存し続けた。これらの結果より、虚血に対する海馬CA 1領域の神経細胞における選択的な神経脆弱性は急激なPDGF-B鎖の消失と関連していることが明らかとなった。以上の研究は、脳虚血時にPDGF-B鎖の神経保護作用を示唆し、脳虚血における神経細胞死の病態解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成10年2月13日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。