

博士論文要約

脳梗塞後の神経幹・前駆細胞の病態生理学的変化に及ぼす GSK-3 β 情報伝達系の関与に関する研究

研究分野	臨床生化学
指導教授	高木 教夫
学位申請者	喜早 慧士

脳梗塞は、患者の約 8 割で後遺症が認められ、最重度の要介護認定を受ける疾患の第 1 位である。脳梗塞慢性期では、再発予防を目的とする抗血小板薬と抗凝固薬に加え、脳梗塞発症の危険因子である生活習慣病を是正する薬物が使用される。しかし、脳梗塞後の組織損傷や症状の改善を望めるものがほとんど存在しないため新たな脳梗塞慢性期の治療薬や治療法の開発は重要な課題である。

近年、幹細胞研究の飛躍的な発展により難治性疾患に対する新たな治療アプローチの 1 つとして幹細胞に焦点を当てた再生医療が注目を集めている。脳梗塞後神経新生は、脳梗塞後に増強され内因性の再生機構の 1 つであると考えられている。新生した神経細胞は障害領域に遊走され、その一部が障害を受けた神経回路に統合されると考えられる。しかし、脳梗塞後に惹起される神経新生は一過性であり、その新生神経細胞数は機能回復するために十分数達していないことや障害領域で生じる炎症や活性酸素種などが原因でその大半が神経回路に統合されることなく死滅することなど、その病態生理学的意義と治療への応用には解決すべき多くの課題が残っている。したがって、脳梗塞後神経新生の病態生理学的変化の理解は、患者・医療ニーズを満たす脳梗塞の新たな治療戦略につながると考えられる。

神経新生は多くの細胞内情報伝達機構によって制御されている。GSK-3 β は中枢神経系に豊富に発現し、様々な基質をリン酸化することで多くの細胞機能を制御している。GSK-3 β は種々の中枢神経疾患と密接に関わることが報告されている。すなわち、GSK-3 β は脳梗塞後神経新生においても重要な病態生理学的意義をもつと考えられる。そこで本研究の第 1 章では、ヒト多発性梗塞を模倣したラットマイクロスフェア脳塞栓 (microsphere embolism : ME) モデルを用いて脳梗塞後に誘発される神経新生と GSK-3 β 情報伝達系の病態生理学的関連を検討した。第 2 章では、低酸素条件下で培養した神経幹細胞を用い、第 1 章で明らかになった分子メカニズムが神経幹細胞内で誘発され、それらの増殖および分化過程に関与しているか否かを検討した。

第 1 章 脳梗塞後神経新生における GSK-3 β 情報伝達系の変化

第 1 章では、ヒト多発性梗塞を模倣するラットマイクロスフェア脳塞栓 (ME) モデルを使用して、脳塞栓後の神経新生とそれに及ぼす GSK-3 β 情報伝達系の関与を検討した。ME 後 7 日目の海馬歯状回では、増殖性細胞数が増加し、その一部が神経細胞へ分化した。また、ME 後 7 日目の海馬歯状回で神経分化に重要な役割を果たす NeuroD 陽性細胞数が増加した。この NeuroD 陽性細胞数の増加は PI3-K/Akt 経路依存的な GSK-3 β / β -catenin 経路の活性化に起因するものであった。PI3-K/Akt 経路の上流に位置し、神経新生に関与すると考えられた IGF-I および BDNF は ME 後 7 日目に著しく減少した。さらに、GDNF や PDGF-BB など他の成長因子もその発現量に変化はなかった。以上より、PI3-K/Akt 経路を活性化する上流因子の同定は今後の検討課題だが、脳梗塞後神経新生のメカニズムの一端に PI3-K/Akt/GSK-3 β 情報伝達系を介した NeuroD の発現増強が関与すると示唆された。

第 2 章 低酸素条件下の神経幹細胞における GSK-3 β 情報伝達系の変化

第 2 章では、低酸素暴露した神経幹細胞を用いて、第 1 章で示された ME 後の脳梗塞後神経新生のメカニズムを検討した。始めに、単離した胎生 14 日齢ラット胎児脳由来細胞の性質を解析した結果、本研究に使用した細胞は自己複製能および多分化能を有する神経幹/前駆細胞であることが示された。次に神経幹/前駆細胞の細胞増殖能および神経分化能に及ぼす低酸素暴露の影響と GSK-3 β 情報伝達系の関与について検討した。その結果、低酸素暴露により神経幹細胞の細胞増殖能が増強した。この増殖能の増強は PI3-K/Akt/GSK-3 β 情報伝達系の活性化が一因であることを明らかにした。一方、低酸素暴露によって神経分化能は増強されたものの、そのメカニズムに PI3-K/Akt/GSK-3 β 情報伝達系の活性化は寄与していなかった。第 1 章の結果をふまえると、PI3-K/Akt/GSK-3 β 情報伝達系の神経分化過程への関与は中枢神経系を構成する他の細胞種により惹起される可能性が示された。

以上、本研究では脳梗塞後に増強される神経新生過程において PI3-K/Akt/GSK-3 β 情報伝達系を介して NeuroD の発現を増強することを *in vivo* 病態モデルを用い明らかにした。さらに、単離神経幹細胞を用いた *in vitro* 低酸素モデルにおいて、PI3-K/Akt/GSK-3 β 情報伝達系が神経幹細胞内で活性化し、神経細胞への分化過程ではなく、増殖過程に寄与していることを明らかにした。これらの研究成果は、脳梗塞後神経新生の機序の一端を明らかにし、新たな脳梗塞治療を開発する上で、有用な知見を与えるものと考えられる。