

氏 名	あき た じょう 秋 田 様
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1868 号
学位授与の日付	平 成 16 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Neuronal differentiation of adult rat hippocampus-derived neural stem cells transplanted into embryonic rat explanted retinas with retinoic acid pretreatment (レチノイン酸で前処理した成体ラット海馬由来神経幹細胞の神経分化に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 影 山 龍 一 郎 教 授 橋 本 信 夫 教 授 金 子 武 嗣

論 文 内 容 の 要 旨

成体ラット海馬由来神経幹細胞 (AHSCs) は移植された環境に反応して、移植部位に特異的な神経細胞に分化する性質をもつ。しかし、この神経幹細胞がどんな外的因子が整った時、網膜神経細胞に分化するかはわかっていない。また、*in vitro* で AHSCs を神経細胞へ分化誘導するレチノイン酸で移植細胞を前処置するとどのような影響があるかも不明である。これらを解明するため、神経幹細胞の分化成熟に関与する様々な外的因子を含むと考えられる胎仔網膜を用い、次の実験を行った。

1) AHSCs をラット胎仔網膜に移植し 2 週間器官培養した後、神経幹細胞の分化を免疫組織化学的に評価し、新生仔網膜に移植したものと比較検討したところ、前者において AHSCs は、より多く β -tubulinIII 陽性神経細胞に分化した。

2) レチノイン酸を含む培地で AHSCs を培養した後、1) と同様の移植と評価を行ったところ、レチノイン酸で前処置した後に移植した AHSCs は、より多く MAP2ab 陽性神経細胞に分化した。

3) AHSCs をレチノイン酸を含む培地で培養した後、*in vitro* にて 2 週間培養し、1) と同様に評価したところ、移植せずに *in vitro* で培養し続けた AHSCs よりも、移植した AHSCs のほうがより多く MAP5 陽性神経細胞に分化した。

しかし、いずれの実験においても、HPC-1, calbindin, PKC, rhodopsin など、網膜神経細胞に特異的なマーカーを発現する細胞には分化しなかった。以上の結果から、胎仔網膜は新生仔網膜よりも AHSCs の神経細胞への分化を促進する環境因子を有すること、レチノイン酸による移植細胞の前処置によって分化が促進され、それを胎仔培養網膜に移植することによって最も多くの割合で神経細胞を得られることがわかった。一方、AHSCs は以上の外的環境の整備では網膜神経細胞にまでは分化し難いことも判明した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

成体ラット海馬由来神経幹細胞 (AHSCs) を、幹細胞の分化成熟に関与する様々な外的因子を含むと考えられるラット胎仔網膜に移植し 2 週間器官培養した後、AHSCs の分化を免疫組織化学的に評価した。新生仔網膜に移植した AHSCs と比較検討したところ、胎仔網膜に移植した AHSCs の方が有意に多くの β -tubulinIII 陽性神経細胞に分化した。レチノイン酸で AHSCs を前処置した後で同様の移植をしたところ、AHSCs は有意に多くの MAP2ab 陽性神経細胞に分化した。移植せずに *in vitro* で培養し続けた AHSCs と比較すると、胎仔網膜に移植した AHSCs のほうが有意に多くの MAP5 陽性神経細胞に分化した。しかし、いずれの実験においても網膜神経細胞に特異的なマーカーである HPC-1, calbindin, PKC, rhodopsin を発現する細胞には分化しなかったことから、AHSCs は胎仔網膜の有する環境因子だけでは網膜神経細胞にまでは分化し難いことが判明し、AHSCs が網膜神経細胞に分化するために必要な AHSCs の内的因子の欠如が示唆された。

以上の研究は、成体ラット海馬由来神経幹細胞の分化成熟に対して、胎仔網膜への移植、レチノイン酸による分化誘導が効果的であることの解明に貢献し、細胞移植による網膜再生研究の発展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16年6月29日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。