

氏 名	と だ ひろ き 戸 田 弘 紀
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2325 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 学 系 専 攻
学位論文題目	Neurons generated from adult rat hippocampal stem cells form functional glutamatergic and GABAergic synapses <i>in vitro</i> . (成体ラット海馬由来の神経幹細胞より分化した神経細胞による培養環境下での機能的グルタミン酸作動性および GABA 作動性シナプスの形成)
論文調査委員	(主 査) 教 授 川 口 三 郎 教 授 金 子 武 嗣 教 授 橋 本 信 夫

論 文 内 容 の 要 旨

哺乳動物の中樞神経系において、海馬歯状回と脳室下帯には成体期にも多分化能および自己増殖能を有する神経幹細胞が存在し、それぞれ歯状回および嗅球にて認められる成体期のニューロン新生に関与していると考えられている。成体の歯状回あるいは脳室下帯から単離培養された神経幹細胞は、形態学的、免疫組織化学的には種々の神経伝達物質を有するニューロンに分化することが知られているが、ニューロンとされている細胞が神経機能を有するかは明らかにされていない。本研究は、培養環境下での神経幹細胞由来細胞のシナプス形成の過程の観察をもとに、神経幹細胞の機能的ニューロンへの分化能を検討した。

Green fluorescent protein (GFP) にて標識した成体ラット海馬由来神経幹細胞を18日胎児ラット海馬由来神経細胞と単層グリア細胞上に共培養した。免疫組織化学法によりシナプス小胞を有するニューロンへの分化を検討し、また抗 GFP 抗体を用いた免疫電子顕微鏡法により神経幹細胞由来細胞のシナプス構造形成を検討した。さらに GFP による蛍光を利用して、パッチクランプ法を用いた分化誘導後の神経幹細胞の電気生理学的特性の検討を行い、膜電位の経時的変化、活動電位やシナプス後電流の発現およびその薬理学的解析を行った。

神経幹細胞の2-3%の細胞がシナプス小胞蛋白を有するニューロンに分化し、伸展した神経突起が隣接細胞とシナプス様構造を形成することを認めた。培養18日目以降に活動電位の発生を認め、培養28日目以降に全記録細胞の1%の細胞に DNQX あるいは bicuculline により抑制されるシナプス後電流を認めた。

成体ラット海馬より単離された神経幹細胞はグルタミン作動性および GABA 作動性機能的シナプスを有するニューロンに分化することを示した。以上により神経幹細胞から機能的ニューロンへの分化誘導が可能なこと、その際にはグリア細胞が重要な役割を果たすことを示した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

成体哺乳動物の中樞神経系において、海馬歯状回と脳室下帯には多分化能および自己増殖能を有する神経幹細胞が存在し、免疫組織化学的には種々の神経伝達物質を有する細胞に分化することが示され、中樞神経系機能再生の手段として期待されている。しかしながら、このように分化した細胞が神経としての機能を有するかどうかについては明らかにされていない。本研究は、培養環境下での神経幹細胞由来細胞のシナプス形成の過程の観察をもとに、神経幹細胞の機能的ニューロンへの分化能を形態学的、細胞化学的、および電気生理学的に検討した。

神経幹細胞は胎児海馬神経と単層グリア細胞上で共培養されると、シナプス小胞蛋白を有する細胞に分化し、伸展した神経突起が隣接細胞とシナプス様構造を形成した。さらに活動電位の発生やグルタミン作動性および γ -aminobutyric acid 作動性シナプス後電流を認めたため、神経幹細胞は興奮性及び抑制性の機能的シナプスを有するニューロンに分化しうると考えられた。

以上の研究は神経幹細胞の生物学的特徴の解明に貢献し、神経細胞移植など中枢神経系の機能再生治療に寄与するところが多い。

従って本論文は博士（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13年1月30日実施の論文内容とそれに関する試問を受け、合格と認められたものである。