

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	王 欢
論文題目	The Reck tumor suppressor protein alleviates tissue damage and promotes functional recovery after transient cerebral ischemia in mice (がん抑制タンパク質Reckはマウス一過性大脳虚血後の組織損傷を緩和し機能回復を促進する)		
(論文内容の要旨)			
脳卒中は、腫瘍、心疾患と共に死亡原因の上位を占めるが、その多く（60%以上）は脳梗塞による。脳梗塞は、死に至らない場合にも後遺症を残して介護が必要となることが多く、福祉の面でも大きな課題を伴う疾患である。近年、診断技術の発展により、梗塞部位を特定する技術は進んだが、血流の途絶によって損傷を受けた脳の機能を回復させる方法はまだ確立されていない。脳機能の回復には、神経細胞のみならず、細胞外マトリックス（ECM）も重要な役割を演ずると考えられている。ECMは、生体組織の構築や機能維持に重要であるのみならず、細胞の運命決定にも大きな影響を与えることが近年明らかになってきた。しかし、ECM成分、ECM受容体、ECM分解酵素などの多くが遺伝子ファミリーを形成しているため、遺伝子欠損動物を用いた個体レベルでの機能解明は遅れている。 RECK(Reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs)は、はじめRASがん遺伝子の悪性転換機能を抑制する分子として発見された。これまでの研究から、RECKは膜にアンカーし、MMP（matrix metalloproteinase）ファミリーを始め多くの細胞外メタロプロテアーゼの活性を制御することによって細胞周囲におけるタンパク質分解の調節に関与することが示唆されている。多くのヒトがんにおいてRECKの発現低下が見られ、強制発現により腫瘍血管新生、浸潤、転移の抑制が観察されることから、RECKは種々の組織においてがん抑制遺伝子として働くものと考えられる。 RECKはショウジョウバエからヒトまで単一遺伝子として保存されており、その遺伝子機能の解明は、ECMやMMPの役割を知る上で重要な情報を与えると期待された。事実、Reck欠損マウスは組織構築の乱れ、血管や神経系の発達異常などを伴う胎生致死形質を示すことから、Reckが発生にとって重要な役割を果たすことが判明した。しかし、このモデルは、成熟個体におけるReckの機能解明には役立たない。一方、一過性脳虚血後にある種のMMPやそれらの阻害因子であるTIMPの発現が変動することが報告されており、この系におけるReckの挙動や役割には興味が持たれる。 そこで、本研究では、野生型マウスおよびReck欠損ヘテロ接合体（Reck^{+/−}）マウスを用い、一過性大脳虚血がReck発現に与える影響およびReck発現量の違いが脳組織損傷や脳機能回復に与える影響を明らかにすることを試みた。まず、野生型マウスに一過性大脳虚血を誘導し、脳組織におけるReck発現を免疫染色法等を用いて解析した。その結果、海馬および脳室下領域のpenumbraにおけるReck発現の亢進が検出された。殊に、虚血2日後の海馬では、CA2領域のNestin陽性Ki67陽性細胞（神経前駆細胞と考えられる）においてReckの発現が見らるのに対し、虚血7日後では、海馬全体にReck陽性細胞が見られ、その60%は神経マーカー（NF200）陽性、40%はグリア・マーカー（GFAP）陽性だった。一方、Reck発現量の低いReck^{+/−}マウスに一過性大脳虚血を誘導した場合、組織損傷や神経細胞死が野生型マウスよりも重篤であり、海馬LTP（シナプス長期増強）の回復も遅延していることが分かった。また、この際にReck^{+/−}マウスにおいてNMDA型グルタミン酸受容体NR2Cサブユニットやゼラチン分解酵素の亢進、ラミニンの減少などが見られた。これらの結果より、Reckが一過性大脳虚血後のECM分解や組織傷害を軽減し、機能回復を促進する働きを持つことが示唆された。 以上の知見は、脳梗塞を始めとする脳血管傷害の新たな予防、治療法の開発に役立つものと期待される。			

（論文審査の結果の要旨）
一過性脳虚血後にMMPの発現上昇が見られることが報告されているが、脳虚血傷害におけるMMPや細胞外マトリックス（ECM）の役割については不明の点が多い。一方、膜結合型MMP制御因子RECKは、がん抑制機能を持つと共に、血管新生、神経分化等の制御を介して哺乳類の胎児発生にも関与することが知られている。本研究では、成体マウスの脳虚血におけるReckの役割について、組織化学、分子生物学、電気生理学などの手法を用いた多面的な検討を加え、以下の知見を得た：
1）軽度の一過性脳虚血2日後に海馬CA2/CA3領域に神経前駆細胞と考えられるReck陽性細胞が出現し、7日後には、グリアや神経を含むReck陽性細胞が海馬全体に出現した。
2）Reck ^{+/−} マウスでは野生型に比べ、虚血後の致死率の上昇、組織傷害が増大、海馬LTPの回復遅延が見られた。
3）Reck ^{+/−} マウスではグルタミン酸受容体NR2Cの発現亢進、血管周囲のラミニン量の減少、ゼラチン分解酵素の一過性発現亢進が観察された。
4）より重度の一過性脳虚血モデルでは、Reck ^{+/−} マウスにおいて梗塞巣の増大が見られた。
これらの知見より、ReckはMMP制御、ECM保護、神経新生などを介して脳虚血後の組織傷害の軽減と機能回復に役立っていることが示唆された。
以上の研究は、Reckの機能解明に貢献し、脳虚血性疾患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23年11月25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。
要旨公開可能日： 年 月 日 以降