

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Establishment of a Reproducible Ischemic Stroke Model in Nestin-GFP Mice with High Survival Rates

(再現性及び生存率の高い脳梗塞モデルを作製可能な Nestin-GFP 遺伝子改変マウスの樹立)

兵庫医科大学大学院医学研究科

先端医学専攻 分子再生医学系

神経再生医学 (指導教授 中込 隆之)

氏 名 西江 英明

【背景】神経幹細胞を緑色蛍光タンパク質 (GFP) で標識した遺伝子改変マウス (Nestin-GFP マウス) は神経幹細胞の動態解析において有用なツールであるが、遺伝的バックグラウンドが C57BL/6 系統のマウスは、脳梗塞モデル作製後の梗塞体積や生存率の再現性が乏しく、脳梗塞後に活性化する神経幹細胞の動態解析は困難である。一方、CB-17 系統のマウスは、脳梗塞モデル作製後の再現性が高く、生存率も極めて高いことが知られている。そこで、本研究では C57BL/6 型 Nestin-GFP マウスを CB-17 系統マウスと戻し交配し、CB-17 型 Nestin-GFP マウスの樹立を試みた。

【方法】Nestin プロモーター下流に GFP を発現する遺伝子改変マウス (C57BL/6 型 Nestin-GFP マウス) を 6 世代以上戻し交配し、CB-17 系統のバックグラウンドを持つ遺伝子改変マウス (CB-17 型 Nestin-GFP マウス) を作製した。C57BL/6 型及び戻し交配にて作製した CB-17 型 Nestin-GFP マウスに対して、脳梗塞を作製し、中大脳動脈 (middle cerebral artery; MCA) からの分岐血管数、脳梗塞体積及び生存率を評価した。また、CB-17 型 Nestin-GFP マウスを用いて、脳梗塞病態時における神経幹細胞の特性を免疫組織化学染色、PCR、マイクロアレイ解析で評価した。さらに、時期特異的に神経幹細胞を標識可能な遺伝子改変マウス (Nestin-Cre/YFP レポーターマウス) を用いて、脳梗塞後に活性化する神経幹細胞の生体内動態を追跡した。

【結果】C57BL/6 型に比べ、CB-17 型 Nestin-GFP マウスでは、梗塞巣が大脳皮質に局限し、個体間の脳梗塞体積の変動が小さく、生存率も高かった。GFP 陽性神経幹細胞は主に脳室下帯 (SVZ) 及び梗塞領域 (梗塞巣及びその周囲) に局在していた。SVZ 及び梗塞領域から単離した細胞は共に神経分化能を有する幹細胞であったが、両者で発現している遺伝子は異なることが判明した。Nestin-Cre/YFP レポーターマウスを用いた解析からも、両者の幹細胞の起源は異なることが示唆された。

【考察】CB-17 型 Nestin-GFP マウスでは、生存率や再現性が高い脳梗塞モデルが作製可能であると考えられた。また、本研究により脳梗塞病態時においては梗塞領域及び SVZ に神経分化能を有する幹細胞が誘導されたが、両者の細胞特性や起源は異なると考えられた。

【結語】本研究により樹立した CB-17 型 Nestin-GFP マウスは、その再現性や生存率が高いことから、脳梗塞病態時において、神経幹細胞を起点とした組織修復及び神経再生機構の解明や評価に極めて有用なツールとなり得ると考えられた。