

# 論文審査の結果の要旨

氏名 福田 諭

本論文は2章からなり、第1章は成体マウス海馬歯状回領域におけるネスチン陽性細胞の電気生理学的な特性、第2章は神経幹細胞と成熟脳神経回路との関わりについて述べられている。

第1章については、成体マウス海馬歯状回に内在する神経幹細胞について、神経幹細胞のマーカーであるネスチンを指標にしたスライスパッチクランプ法を用いた解析を行っている。その結果、ネスチンを指標とした神経幹細胞は、膜電流特性の違う2種類の細胞に分かれることを示している。方法として、神経幹細胞マーカーであるネスチンの下流に GFP 遺伝子を組み込んだマウスを用い、GFP 蛍光を指標に神経幹細胞を識別し、スライスパッチクランプ法を適用することで神経幹細胞の細胞膜上の電流を計測した。その結果、入力抵抗値という値をもって神経幹細胞は2峰性の分布を示した。そこで低抵抗値群を **Type I** 細胞、高抵抗値群を **Type II** 細胞と名付けた。**Type I** 細胞には電位依存性チャンネルが無く、非常にアストログリア的な細胞であった。また、**Type II** 細胞は電位依存性のナトリウムチャンネルがあり、幼若神経細胞的であった。さらにこのように電気生理学的に分けられた2種類の細胞に関して、電気生理実験後に形態的・免疫染色学的な解析を行ったところ、

Type I 細胞は顆粒細胞層に GFAP 陽性の多枝状の突起を伸ばし、Type II 細胞は PSA-NCAM 陽性で顆粒細胞層とは逆側に突起を伸ばしていた。この知見は、免疫染色学的に見ても Type I 細胞はアストログリア的、Type II 細胞は幼若神経細胞的な性質を持っていたことを表している。Type I 細胞と Type II 細胞の連続性を検証するために、DNA 複製時に DNA に取り込まれる BrdU 陽性の分裂細胞の細胞種の割合を時間軸を追って見て行く実験を行い、Type I 細胞から Type II 細胞が生まれ、そこから神経細胞に至る細胞種の変遷を観察している。現在に至るまで、生体脳内微小環境内での神経幹細胞の本来の特性を明らかにした論文はなく、本論文の報告は貴重な知見であると言える。

第2章については、第1章で2種類に分けられた細胞種の内、Type I 細胞に関して周囲の神経回路網との関わりという視点からの解析がなされている。まず歯状回への入力である神経繊維を刺激した際に、Type I 細胞が電流応答をし、細胞内 Ca 濃度上昇反応を示すことを確かめている。次に、この貫通繊維がグルタミン酸を放出する投射であることから、Type I 細胞のグルタミン酸に対する応答性を電気生理学的に調べ、Type I 細胞はグルタミン酸トランスポーターの一種である GLAST を強く発現しており、グルタミン酸に対し、この GLAST を介して反応していることを報告している。さらに歯状回に対する抗 GLAST 抗体による免疫染色を行い、Type I 細胞に特異的に GLAST が発現していることを確かめている。最後に、GLAST-KO マウスを用いて BrdU 陽性細胞数を計測し、ノックアウト表現形のマウスは、ヘテロ表現形の

マウスに比べ、BrdU 陽性数が少なく分裂細胞数が少ないことを示している。論文は、神経幹細胞が脳神経回路に参加していることを示し、また脳内で余剰グルタミン酸を取り込むことで脳内環境を保つ、機能を持つ神経幹細胞像を描いており、従来の神経幹細胞像とは違うダイナミックな姿を提示した意味がある。

これらの結果は、成体内の神経幹細胞の動態を示した生物学的意味がある。さらに、これまで正体の明らかでなかった生体内の神経幹細胞の特性を明らかにしたことは、成体内の神経幹細胞を標的とする薬理的なアプローチの手掛かりを示していると言え、応用面でも将来期待のできる結果を示したと判断できる。したがって、論文提出者は、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。