

## 学位論文抄録

扁桃体キンドリングにより高められる成体マウス大脳新皮質での  
GABA作動性ニューロン産生  
(GABAergic neuron production in the adult mouse neocortex  
induced by amygdala kindling)

二宮省悟

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻脳回路構造学

指導教員

玉巻 伸章 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻脳回路構造学

## 学位論文抄録

[ 目的 ] ヒトを含めた哺乳類の成体脳には、側脳室周囲の脳室下帯と海馬歯状回に神経幹細胞が存在し、長期に渡り神経細胞の産生が続くことは知られていた。しかしそれ以外の領域では、依然として神経細胞産生はないと考えられている。本研究では扁桃体キンドリングによる癲癇重積発作モデルマウスを用いて、成体脳の大脳新皮質における神経新生に関する研究を行った。癲癇様神経活動に伴い神経細胞が細胞死を起こし、その後行動異常が回復する。そこで回復期において、大脳新皮質に神経細胞の新生が起こるかどうかを調べた。

[ 方法 ] 時期特異的に神経系に存在する神経前駆細胞を殺すため、前駆細胞に diphtheria toxin fragment A (DTA) を発現する Nestin-CreER<sup>T2</sup>/lox-DTA-lox マウス、また神経前駆細胞を可視化するため Nestin-CreER<sup>T2</sup>/lox-GFP-lox マウスをそれぞれ準備した。さらに、神経前駆細胞に Green Fluorescent Protein (GFP) を発現する Nestin-GFP マウスも用いた。生後 10 週齢の野生型および各遺伝子マウスで癲癇重積発作モデルマウスを作製するため、短期的 (1 週) および長期的 (1 ヶ月) 連続電気刺激を行った後、免疫染色やウエスタンブロット法を用いて、成体脳の大脳新皮質での神経新生を分析した。

[ 結果 ] 野生型マウスでは毎日電気刺激を重ねるごとに神経前駆細胞マーカーである nestin 陽性細胞が増加した。一方、神経前駆細胞を減少させた Nestin-CreER<sup>T2</sup>/DTA マウスでは、刺激日数とともに、nestin 陽性細胞の減少が認められた。電気刺激に伴い神経新生が起こるかを調べるため、5-Bromo-2-deoxyuridine (BrdU) 投与実験を行ったところ、野生型マウスでは BrdU 陽性細胞数の増加を確認した。一方で、Nestin-CreER<sup>T2</sup>/DTA マウスでは有意に BrdU 陽性細胞数が減少し、脳重量の減少および重篤な癲癇重積発作を示した。Nestin-CreER<sup>T2</sup>/GFP マウスを用いることにより、神経前駆細胞が増殖していることがわかった。また、野生型マウスおよび Nestin-GFP マウスにて nestin 陽性細胞は、pia mater の外に発現していることが確認され、 $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) 合成酵素マーカーである GAD67 と共存することも分かった。さらに長期的電気刺激により大脳新皮質内に存在した GABA 作動性ニューロンのサブタイプである parvalbumin (PV)、calretinin (CR)、somatostatin (SS) 陽性細胞も BrdU を取り込むところが観察できた。

[ 考察 ] 扁桃体キンドリングにより nestin 発現に続き、成体脳で神経細胞が新生し、癲癇症状を抑制することが示唆された。またその新生した神経細胞は、癲癇重積発作により発生した脳細胞の異常興奮を抑制する抑制性神経細胞であり、脳内を抑制的にコントロールすることが考えられた。

[ 結論 ] マウス大脳皮質には、癲癇様神経活動に伴い脱落する神経細胞を補うために新たに抑制性神経細胞を産み出す仕組みがあることが示唆された。