

学位論文審査結果の要旨

氏名	松本 調
審査委員	主査 山下 政克 副査 羽藤 直人 副査 伊賀瀬 道也 副査 宮川 正男 副査 西川 典子

論文名 脳梗塞巣に集簇する CD200⁺/CD200⁻の2種類のマクロファージ
: NG2 プロテオグリカンと CD200 発現による分類

審査結果の要旨

【緒言】脳梗塞の発症により、梗塞巣の中心部では、好中球、単球、リンパ球などの血球系細胞の浸潤が起こる。これまでの研究から、ラット脳梗塞モデルでは、脳梗塞巣を中心に骨髄由来 Iba1 陽性マクロファージが侵入し、NG2 プロテオグリカン (NG2) を発現するとともに、激しく増殖して集積することが分かっている。申請者らは、BINCS (Brain Iba1⁺/NG2⁺ Cells) と呼ばれるこの細胞群を解析することで、脳梗塞に対する新たな治療法の開発が可能であると考へ研究を行ってきた。今回、申請者は、この細胞とは別の形質を有する CD200 陽性のマクロファージが梗塞巣中心部に集積することを新たに見いだした。

【目的】脳梗塞中心部に集積するマクロファージを、NG2 陽性 CD200 陰性と NG2 陰性 CD200 陽性の2群に分け、その性状を検討した。

【方法】中大脳動脈一過性閉塞によるラット脳梗塞モデルを作成し、脳梗塞巣の中心部、辺縁部、対側非虚血部組織の CD200 と CD200R の mRNA 発現を経時的に定量的 RT-PCR で測定した。梗塞7日目の梗塞巣より、マクロファージを分離し CD200 の cDNA 配列を決定した。また、CD200 のバリエントを識別できる抗体を用いて、ウエスタンブロッティング解析を行なった。さらに、ラット脳梗塞モデルの凍結切片を作成し、NG2 陽性マクロファージと CD200 陽性マクロファージの局在や、M1、M2 マーカーの発現について免疫組織学的検討を行った。

【結果】免疫組織染色の結果、脳梗塞巣マクロファージは、NG2 陽性 CD200 陰性と NG2 陰性 CD

200 陽性に分類することが出来た。また、両マクロファージはともに CD200 受容体 (CD200) R を発現していた。脳梗塞巣マクロファージは、exon1、2 および exon3 の一部が欠失した CD200-truncated form (CD200S) を発現しており、脳梗塞中心部では、CD200-full length (CD200L) に比べ、CD200S の mRNA 発現が有意に高かった。ウエスタンブロッティング解析から、CD200L は、脳梗塞対側や辺縁部に発現が高く、CD200S は、梗塞中心部に発現が高いことが確認された。免疫組織染色の結果、多くの CD200 陽性細胞が、CD200L と CD200S を共発現していることが示された。さらに、NG2 陽性細胞は梗塞巣皮質に、CD200 陽性細胞は梗塞巣脳梁に集簇しており、NG2 陽性細胞の周囲には、CD200 陽性の変性組織が多量に存在していた。CD200 陽性細胞は、M1 マーカーである CCL2、iNOS、IL-1 β 、TLR4、M2 マーカーの CD68、CD163、TGF β 陽性であり、NG2 陽性細胞は、M1 マーカーである CD86 を除いて陰性であった。

【考察】脳梗塞巣に集積するマクロファージは、NG2 陽性と CD200 陽性の 2 種類に分類されたが、いずれも報告されている M1、M2 分類にはあてはまらないものであった。脳梗塞中心部の CD200 陽性細胞は起炎症性活性を有し、NG2 陽性細胞は起炎症性メディエーターや食欲能が抑制されていると考えられた。NG2 陽性細胞の周囲には、神経細胞由来と考えられる CD200L 陽性変性組織が存在し、CD200L 陽性組織と自身の CD200R との相互作用による起炎症反応の抑制の可能性が示唆された。一方、CD200 陽性細胞は、CD200L と CD200S を共発現しており、CD200L/CD200R による起炎症活性の抑制が CD200S によって、無効化されている可能性が考えられた。

本論文では、ラット脳梗塞モデルを用いて、脳梗塞巣に集積するマクロファージの新たな分類を提唱するものであり、明瞭な結果と十分な考察が提示されている。公開審査会は、平成 27 年 1 月 14 日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表し、以下の内容を含む多くの質問に対し日本語で的確に応答した。1) 新規に同定した細胞の分化様式、2) CD200R を介した起炎症活性の抑制メカニズム、3) ラットモデルのヒト脳梗塞病態の反映、4) 同定したマクロファージサブセットの慢性虚血の病態や変性疾患への関与の可能性、5) 脳梗塞に対する治療応用への将来展望など。審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。

(第8号様式)

最終試験の結果の要旨

氏名	松本 調
審査委員	主査 印
	副査 印

実施年月日

平成27年1月14日

試験方法（該当のものを○で囲むこと。）

口頭 筆答

試験結果の要旨

申請者は、愛媛大学大学院医学系研究科に在学中であり、所定の単位を修得している。平成27年1月14日に開催された公開審査会において、提出論文の内容及び関連領域に関する試問を行った。

申請者はそれらの質問に対して明確に応答し、学位授与に値する十分な見識と研究遂行能力を備えていることが確認されたので、最終試験に合格と判定した。