

氏名	あさ だ よし ゆき 麻 田 義 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1779 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Neural repair of the injured spinal cord by grafting: comparison between peripheral nerve segments and embryonic homologous structures as a conduit of CNS axons (移植による損傷脊髄の神経修復: 中枢神経軸索伝導路としての末梢神経と胎児脊髄組織との比較)
論文調査委員	(主 査) 教 授 笹 井 芳 樹 教 授 井 出 千 束 教 授 川 口 三 郎

論 文 内 容 の 要 旨

胎児脊髄相同組織, または末梢神経を移植して中枢神経系の再生を図る試みが, 多くの研究者によってなされている。本研究において, 中枢神経軸索の再生機構を明らかにする目的で, これら二つの試みを同一モデルを用いて比較する実験を行った。

生後1~3日齢のWistar系ラット脊髄の, 1.5~2髄節をT10~11のレベルで鋭利に切除し, その空所に同系2週齢ラットより採取した坐骨神経, または胎生15~16日齢のラット胎仔の脊髄髄節を移植し, 移植部の組織学的検討, 軸索の順行性標識と神経細胞の逆行性標識による再生神経の評価を行い, 以下の結果を得た。

頭尾側の脊髄を含めた移植部の切片を作成し, neutral red 染色による組織学的検討を行った。矢状断面で胎仔脊髄髄節は, グリア瘢痕等を形成することなく宿主脊髄と融合し, 境界部の見分けが全くつかなかった。末梢神経も宿主脊髄と融合しているが境界部は明瞭で, 脊髄とは異なる組織学的構造を示した。前額断切片において胎仔脊髄髄節は, やや捻れてはいるが, 白質, 灰白質のある脊髄の基本構造が観察されたのに対し, 末梢神経片においては無構造な組織を呈した。

WGA-HRPによる錐体路の順行性標識を行い, 再生軸索の走行と終止部位を検索した。再生軸索は末梢神経移植片に伸長したが, 分散・蛇行し, ランダムに走行した。大部分の軸索は移植片尾側端と宿主脊髄の境界部でブロックされたように止まり, 僅かに脊髄に進入した軸索も境界部の近傍に終止した。胎仔脊髄髄節移植片内で, 軸索は線維束を形成することなく走行するも, 尾側境界部付近で収束し, 方向性を持って宿主脊髄の後索へと走行した。そして宿主脊髄に進入し, 後索を尾側に向かって伸長した。

再生軸索起始細胞の逆行性標識として, 末梢神経移植ラットで腰膨大にFast blueを注入した群(末梢-腰膨大群), 移植片尾側端と宿主脊髄境界部に注入した群(末梢-境界部群), 胎仔脊髄移植ラットで腰膨大に注入した群(胎仔-腰膨大群)で脳幹~大脳の連続切片を作成し, 標識細胞の有無を観察した。

末梢-腰膨大群では, 延髄で少数の標識細胞を観察するのみで, それより上部構造には標識細胞は認められなかったが, 末梢-境界部群では, 延髄~橋を中心に相当数の細胞が標識され, さらに赤核や大脳皮質にも標識細胞が観察される例があった。胎仔-腰膨大群では, 下向性伝導路の起始核の大部分で標識細胞が観察された。再生軸索の定量評価の目的で, 赤核, 前庭核, 縫線核で, 標識細胞数を計測すると, いずれの核においても, 末梢-境界部群で移植片内に再生軸索を伸ばした細胞数は, 胎仔-腰膨大群で, 移植片を越え, 腰膨大に軸索を伸ばした細胞数を上回っていた。

以上の結果から, 新生ラット脊髄損傷モデルにおいて, 末梢神経移植片への軸索再生は, 胎仔脊髄髄節移植と同等に起こるが, 移植片を越えた伝導路の再構築は, 胎仔脊髄髄節移植のみで可能であることが判明した。中枢神経系において, 軸索を正しい経路に導き, 正しい終末に終止させる positional and guidance cues の存在が知られている。中枢神経系における伝導路の再構築には, 整合性のある, positional and guidance cues の導入が必要であり, それは, 胎仔相同組織の移植によって可能である事, そして, 再生軸索が positional and guidance cues を識別する能力は胎仔相同組織を通過しても失わ

れないが、末梢グリア環境を通過すると失われる事を、本研究は示している。

論文審査の結果の要旨

本論文は新生ラット脊髄損傷モデルを用いて中枢神経軸索の再生機構を解析したものである。申請者らは髄節を切除した新生ラット脊髄に胎仔脊髄髄節、または幼若ラットの坐骨神経を移植し両者の比較を行った。順行性標識法で錐体路を観察すると、末梢神経移植片内に侵入した軸索は分散・蛇行し、移植片の尾側端と宿主脊髄の境界部で止まるか脊髄内の境界部近傍に終止した。対照的に、胎児脊髄髄節移植片においては、軸索は線維束を形成することなく走行するも、移植片と宿主脊髄の境界部付近で収束した後、正しい方向性を持って宿主脊髄腰膨大へ侵入した。逆行性標識法を用いて、下向性伝導路における再生軸索の起始細胞数を計測し、定量評価を行った。その結果、移植片内への軸索の再生は末梢神経移植においても胎仔脊髄髄節移植と同程度におこるが、移植片を越えて腰膨大部に達するものは、末梢神経移植においては、胎仔脊髄髄節移植に比べて極めて僅かであることが確認された。

以上の研究は、軸索を正しい経路に導く手がかりを再生軸索が認識する能力は、胎仔相同組織を通過しても失われないが、末梢グリア環境を通過すると失われることを示すとともに、伝導路の再構築には胎仔相同組織に存在する手がかりの導入が有用であることを示したものであり、脊髄損傷の治療法研究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14年3月6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。