

京都大学	博士（医学）	氏 名	山 本 美 絵
論文題目	Transplanted olfactory mucosal cells restore paw reaching function without regeneration of severed corticospinal tract fibres across the lesion（嗅粘膜細胞の移植は、損傷皮質脊髄路の神経再生を起こさずにリーチング動作を回復させる）		
（論文内容の要旨）			
皮質脊髄路損傷ラットは、脊髄損傷後の神経修復や機能回復を考察するためのモデルとして数多く使用されている。第1－2頸髄レベルで背側皮質脊髄路を片側のみ損傷させたラットは、損傷側前肢のリーチング動作が障害され、長期間（少なくとも8週間）にわたり餌を獲得することができなくなることが報告されている。しかし他の研究グループは、延髄での錐体交叉部分や他の頸髄レベルで皮質脊髄路を片側損傷しても、損傷側前肢のリーチング動作の障害を永続的には起こしえないことを報告している。この問題を解決するために、脊髄を第1－2頸髄レベルで定位的に電気損傷し背側皮質脊髄路損傷とリーチング動作障害の関係について調べ、リーチング動作障害を長期的に起こさせるためには、背側部の皮質脊髄路を含む Rexed's V-VII 層の灰白質が損傷されることが不可欠であることを報告した。 一方、片側皮質脊髄路損傷後に、このリーチング動作を8週間障害されたラットの脊髄損傷部に、嗅球由来の培養細胞（嗅神経鞘細胞（OEC）と繊維芽細胞が約50％ずつ混合された細胞）を移植すると、リーチング動作に改善が見られ、損傷側前肢で餌を獲得できるようになったことが報告されている。また組織学的にも、細胞移植後に損傷部や移植部を超えた皮質脊髄路の神経軸索の再生が見られ、動作の回復と皮質脊髄路の再生が関係することが報告された。このように OEC は脊髄損傷後の機能回復に有効な細胞の一つとして動物実験レベルで数多くの研究に使用されてきた。しかしこの細胞を臨床応用として使用するためには、嗅球からではなく、侵襲の少ない嗅粘膜からの細胞を自家移植することが望ましいと考えられる。そこでこの片側皮質脊髄路損傷モデルラットを用いて、培養嗅粘膜細胞が嗅球由来の培養細胞と同じような効果を持つかどうかを調べた。 ラットの背側皮質脊髄路と隣接する灰白質を片側損傷し、8週間リーチング動作に障害を起こしたラットに、緑色蛍光タンパク（GFP）標識した嗅粘膜細胞を移植し、さらに10週間動作観察したところ、ほぼ非損傷側と同じレベルまでリーチング動作の回復が認められ、損傷側前肢での餌の獲得が可能となった。またコントロール群である培養液のみを脊髄に注入したラットや脊髄損傷のみのラットでは、リーチング動作の回復は認められず、損傷側前肢での餌の獲得は見られなかった。動作観察後にこれらのラット全てを環流固定し、脊髄を組織学的に観察したところ嗅球由来の細胞移植の場合とは異なり、移植された嗅粘膜細胞は損傷中心部では生存できず、また損傷部周囲に移植された場合でも損傷中心部に移動したり、損傷部を架橋したりすることは認められなかった。免疫染色法を用いて脊髄切片を観察すると、移植後損傷部周囲に生存する GFP 陽性細胞の一部は、抗ニューロフィラメント抗体陽性の神経線維と隣接していた。そこで、別の実験グループを作成し脊髄に嗅粘膜細胞を移植した後、神経トレーサーを用いて皮質脊髄路を標識した。その結果、皮質脊髄路の移植			

部を越えた神経軸索の再生は全く認められず、神経軸索の先端は移植部の吻側で後退しており、GFP 陽性細胞との接触も認められなかった。 これらの結果から、脊髄損傷後の嗅粘膜細胞移植はリーチング動作の機能回復を生じるが、皮質脊髄路の再生はなく、機能回復は損傷された背側皮質脊髄路の神経再生以外のメカニズムで起こることが示唆された。			
（論文審査の結果の要旨） 嗅神経鞘細胞（OEC）は脊髄損傷後の神経再生と機能回復を起こす細胞の候補として注目を浴びている。しかしこれらの研究は殆ど嗅球由来の OEC が用いられており、嗅粘膜由来の OEC を用いた実験はあまり行われていない。また臨床応用のうえでも侵襲の少ない方法で細胞を採取し自家移植ができる嗅粘膜細胞を移植することが望ましい。 本研究ではラットの脊髄背側の皮質脊髄路と隣接する灰白質を片側のみ損傷した後のリーチング動作障害を生じさせ、脊髄損傷後にこの障害を8週間起こしたラットに対して嗅粘膜細胞移植を行い、リーチング動作の機能回復を明らかにした。しかしながら同じような実験系で報告されている嗅球由来の OEC 移植後の先行研究とは異なり、嗅粘膜細胞の移植では、移植細胞が損傷部を架橋することはなく、また皮質脊髄路の神経再生は認められなかった。これらの結果からこのリーチング動作の機能回復は皮質脊髄路の再生以外のメカニズムで起こることが示唆された。 よって本研究は嗅粘膜細胞移植後の機能回復のメカニズムの解明に貢献し、脊髄損傷後の神経修復や機能回復の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22年1月14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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			