

氏 名	かた 片 岡 かず 和 哉
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1849 号
学位授与の日付	平 成 16 年 3 月 23 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	Alginate, a bioresorbable material derived from brown seaweed, enhances elongation of amputated axons of spinal cord in infant rats. (褐藻類由来の生体吸収材料であるアルギン酸は幼若ラットにおいて切断された脊髄内軸索の伸長を促進する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 金 子 武 嗣 教 授 橋 本 信 夫 教 授 鈴 木 茂 彦

論 文 内 容 の 要 旨

従来再生不能と考えられてきた中枢神経も、適切な環境のもとでは再生することが明らかになってきた。これまでは胎児脊髄組織、同種シュワン細胞等、細胞成分を移植し再生させる研究が中心であったが、臨床応用を考える際、このような細胞や動物由来生体物質は、ドナーの犠牲、病原体の感染、倫理的問題等の困難が大きいと考えられた。そこで、われわれはこのような問題点を克服するため、植物由来の材料であるアルギン酸を用い、脊髄損傷の治療を目標として、細胞成分を移植しないで脊髄を再生させる研究を行った。

アルギン酸は褐藻類由来のPolysaccharideで、皮膚の創傷被覆材として臨床で使用されている。従来のアルギン酸は、イオン結合架橋によるものであったが、これに共有結合架橋を加え凍結乾燥しスポンジとした。これは、従来の異物反応、細胞毒性等の問題点を克服したもので、皮膚・末梢神経再生において優れていることが明らかになっている。これを研究に使用した。

生後10日の幼若ウィスター系ラットの脊髄を、Th7-8のレベルで2箇所完全切断し、約2mmのギャップを作成した。この作成したギャップに、アルギン酸スポンジを移植した。また、ギャップになにも移植しないものをコントロール群とした。

移植後、4、8、12週で下肢の運動機能を、BBBスコアを用いて評価したが、両群で有意の差は出なかった。これは脊髄完全切断モデルでは損傷が大きすぎるためと思われた。移植後6週で電気生理学的評価を行った。大脳皮質運動野を電気刺激し、下肢腓腹筋で誘発筋電図を記録した。アルギン酸移植群では、ほとんどの個体で記録された。また、コントロール群では記録できなかった。次に、腓腹筋を電気刺激し大脳皮質感覚野で感覚誘発電位を記録した。定まった波形の電位は得られなかったが、アルギン酸移植群ではいずれの個体でも誘発電位が記録された。コントロール群では全く記録されなかった。移植後2、8週で光学顕微鏡、透過型電子顕微鏡を用いて評価した。2週の光顕像では切断端近傍に神経様組織が見られた。電顕で観察すると、この組織は神経周膜様構造に囲まれた末梢神経型の軸索であった。8週ではギャップ中央部分にシュワン細胞に囲まれた軸索が多数見られた。一方コントロール群では、ギャップ内は空洞を形成しており、再生軸索は認められなかった。8週で免疫組織化学的評価を行った。移植群では、頭側、尾側両方の断端から軸索が伸長している様子が見られた。またアストロサイトの突起がギャップ内に伸長している所見も得られた。コントロール群では、断端に強いアストロサイトの集積が見られ、軸索のギャップ内への伸長は見られなかった。さらに、CGRP、CaMKⅡの抗体で染色すると、ギャップ内に上行系（感覚系）、下行系（錐体路）両方の軸索が伸長している所見も得られた。

移植後6ヶ月で軸索のトレーサーであるB-HRPを注入し評価した。坐骨神経より注入した上行系も、大脳皮質運動野に注入した下行系もギャップを超えて反対側の脊髄断端より、再生軸索が再侵入している所見が得られた。

以上のことより、このアルギン酸が、脊髄内再生軸索が伸長を妨げるアストロサイトによるグリオーシスを軽減し、またギャップ内では再生軸索の伸長の足場となり伸長を促進していること。さらにシュワン細胞も誘導し軸索の再生・伸長に良好な環境を与えていることが証明された。また、電気生理学的評価より、切断された脊髄が電氣的に繋がっていることも示

唆された。今後神経栄養因子等を添加・結合することでさらに良い環境をつくることが期待できると考えられた。

論文審査の結果の要旨

再生不可能とされてきた中枢神経も、胎児脊髄組織やシュワン細胞等の移植により再生可能であることが明らかになってきた。しかし臨床応用を考えた場合、他人の細胞成分の移植は様々な問題があり困難である。本研究では、細胞成分を使用せず植物由来の生体吸収性材料であるアルギン酸スポンジを用い脊髄再生の可能性を検討した。生後10日目のラットのTh7-8のレベルで脊髄に約2 mmのギャップを作成し、アルギン酸を移植した。移植後6週間での電気生理学的評価では、下行路として大脳皮質運動野の刺激でギャップを超えた下肢より誘発筋電図が記録され、上行路として腓腹筋の刺激で感覚野より誘発電位が記録された。移植後8週の組織学的評価では、ギャップ内にシュワン細胞に囲まれた軸索の再生を認めた。また免疫組織化学的評価では、脊髄切断端よりギャップ内に伸長する軸索を認め、さらに錐体路、感覚神経の軸索の再生も認められた。移植後6ヵ月に行ったB-HRPを用いたトレーサー評価では、上行路・下行路ともギャップを超えて軸索が対側の脊髄断端より再侵入している所見が得られた。以上の結果より切断された脊髄内軸索がアルギン酸内を伸長し、ギャップを超えて脊髄へ再侵入し、シナプスを形成していることが明らかとなった。以上の研究はアルギン酸が脊髄内軸索の再生に良好な環境を提供していることを解明し、将来の脊髄損傷の治療法の開発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16年1月26日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。