

Title	異種間脳移植によるサーカディアンリズム修復機構に関する研究
Author(s)	松井, 豊
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37146">https://hdl.handle.net/11094/37146</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	まつ 松	い 井	ゆたか 豊
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	9 1 2 1	号
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	医学研究科外科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当		
学位論文題目	異種間脳移植によるサーカディアンリズム修復機構に関する研究		
論文審査委員	(主査) 教授	最上平太郎	
	(副査) 教授	塩谷弥兵衛	教授 津本 忠治

### 論文内容の要旨

#### (目的)

サーカディアンリズムとは、外界から一日の長さを識別出来ない恒常の環境下で、生物の活動にみられる、ほぼ1日の周期をもつリズムのことである。ラットの視交叉上核の電氣的活動が、周囲から独立してサーカディアンリズムを現すことがわかり、また、その破壊により、車廻し運動のサーカディアンリズムが消失し、更にはラットの視交叉上核を移植すると再現することから、視交叉上核がサーカディアンリズムの強力な発振器であることが証明された。昼夜の区別をつけた条件下では、視交叉上核の電氣的活動は、昼間に活発であり、夜行性のラットでは、視交叉上核の活動と行動の位相が逆転し、昼行性のショウセンシマリスでは位相が同じであった事から、視交叉上核の機能が如何なる経路を経由して行動に発現するかが注目された。この実験は、行動リズムの発現とサーカディアンリズムの中樞神経機構の機能的関連を解明するために、行動型の異なる二つの齧歯類である昼行性のショウセンシマリスと夜行性のラットの間で、視交叉上核の異種間神経移植を行い、サーカディアンリズムの機能的修復について基礎的検討を行った。

#### (方法ならびに成績)

方法 1) 動物：昼行性動物として、野生の成長したオスのショウセンシマリス (*Eutamias sibiricus*)、夜行性動物として、兄妹交配を続けたウィスター系ラットを用いた。2) 麻酔：リスはペントバルビタール (50mg/kg 体重) の腹腔内投与と塩酸ケタミン (15mg/kg 体重) の筋肉内注射で、ラットにはエーテルの吸入麻酔を行った。3) 視交叉上核の破壊：リスを定位脳手術装置に固定し、定的に視交叉上核に電極を刺入し、2mA、25秒間の直流通電を2回繰り返して、破壊し

た。4) 脳組織移植：出生1日目のオスラットの脳を、視交叉上核を含め厚さ1mmのスライスにし、両側の視交叉上核を打ち抜いた。また胎仔脳を移植する場合は、視交叉上核の機能的分化が始まる胎生17日目の視床下部を含む前脳後腹側部分を、ナイフで切り出した。そして、数個の組織片を、定位手術的にリスの第三脳室に移植した。5) サーカディアンリズムの測定と評価：外界の刺激を遮断するため、両眼を摘出されたリスを、白色雑音を常時流した24℃の防音室内で、自由摂食摂水させながら、回転籠付きケージで飼育した。車廻し運動をコンピュータ記録し、アクトグラフ表示やリズムの周波数分析(パワースペクトル分析)処理を行った。上記の飼育条件で安定したリズムをもつリスを選び、視交叉上核の破壊手術を行い、術後60日以上経過しても、サーカディアンリズムが回復しないリスに移植手術を行った。移植後40-150日間にわたり車廻し運動を計測し、リズムの再現性を検討した。6) 免疫抑制剤：サイクロスポリンAを、移植手術直後は筋肉内投与(10mg/kg体重/日)し、経口摂取が可能となれば、飼料に混合して経口投与(80mg/kg体重/日)を行い、計測終了時まで投与し続けた。7) 組織学的検索：10%ホルマリンで固定後、50μmの脳切片をクレシルルヴァイオレット染色した。一部はザンボニー固定液で灌流固定後、20-30μmに薄切し、Vasoactive Intestinal Polypeptide(VIP)とバソプレッシンに対する抗血清を用いたPAP法で染色し、全例の組織標本作製した。

成績 1) 移植による機能回復：36例のラット新生仔脳移植のうち、サイクロスポリンAの非投与群20例と投与群16例では、各々2例ずつサーカディアンリズムが回復した。5例の胎仔脳移植では、サイクロスポリンA投与の4例中1例で機能回復したが、非投与群の1例では機能回復は無かった。2) 移植後のリズムの経時変化：破壊後は、非常に短い周期を持つリズムが認められるのみであったが、機能回復した症例では、移植1-2カ月後から24時間前後のリズムが再現し、次第に明瞭なサーカディアンリズムの自由継続が認められた。機能が回復した5例のパワースペクトル分析の結果は、いずれも24±4時間の周期のリズムが優位であったが、他の周期のリズムも混じり、分布の度合は強力ではなかった。今回は、両眼摘出モデルを用いているので、明暗による同期現象は検索できなかった。3) 移植片の組織像：機能回復例では、第三脳室腹側側壁に移植片が生着することが多く、VIP染色とバソプレッシン染色の結果、各々の神経ペプチドを含む神経細胞が移植片内に多数観察された。移植片と宿主脳の間には脳室上衣細胞層が介在することはなく、神経ペプチドを含む神経線維が移植片から宿主脳へ伸長した像も観察され、移植片と宿主脳の神経連絡が確認された。非回復例でも、VIPとバソプレッシンを含む神経細胞が共に生存し、視交叉上核が脳内に生着している場合があり、単に脳内生着だけで機能回復するとは言えず、宿主との神経連絡が必要であることが示唆された。サイクロスポリンAの投与例では、非投与例と比較して、大きな移植片が生着していることが多くみられたが、移植片内の神経ペプチド陽性細胞や神経線維の数に差はなく、組織学的所見でも特に有意な差は認められなかった。

(総括)

異種間移植された視交叉上核が、行動型の異なる宿主の行動に、サーカディアンリズムを発現させることが確認された。同種間移植と比較して、機能回復率が低く、回復したリズムが弱いのは、生着

した移植片の神経細胞と宿主の神経連絡の形成と維持が難しい事が一因であると推測された。また、移植組織の拒絶反応の他に、視交叉上核からの入力システムにおいて、異種間の神経機構の相違も重要と考えられた。しかし、移植により機能回復した症例が少ないとは言え、行動型が異なる異種間でも、視交叉上核が強力な発振器として機能することが実証された。本実験は、様々な生理学的リズム現象と、サーカディアンリズムの中核である視交叉上核の機能との関連を解明するのに重要な役割を果たすと考えられた。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、齧歯類では、視交叉上核がサーカディアンリズムの発振器として重要な位置を占めると推測されたことから、夜行性のラットの視交叉上核を昼行性のチョウセンマリスの第三脳室に移植し、移植された異種の視交叉上核が機能することを生理学的に明らかにしたものである。

また、中枢神経系の特徴である可塑性にも注目して、異種間脳移植による修復機構もあわせて検討したものであり、生体リズム現象の中核機構の解明に加えて、中枢神経機能の欠損に対する移植による修復治療という脳神経外科学的治療方法にも成果が期待でき、学位に値すると考える。