



Title	Survival of axotomized retinal ganglion cells in peripheral nerve-grafted ferrets
Author(s)	全, 美子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41745">https://hdl.handle.net/11094/41745</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">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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	全 美 子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 15216 号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生理系専攻
学位論文名	Survival of axotomized retinal ganglion cells in peripheral nerve-grafted ferrets (坐骨神経移植による網膜神経節細胞の生存促進と軸索再生)
論文審査委員	(主査) 教授 福田 淳  (副査) 教授 津本 忠治 教授 三木 直正

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

成熟した哺乳動物の中樞神経細胞は、一度その軸索が損傷を受けると軸索再生せず、逆行性変性に減りやがて死滅する。網膜神経節細胞の軸索である視神経が切断されると、網膜神経節細胞が逆行性変性を来し細胞死に至る。しかしながら、最近、視神経切断端に自らの坐骨神経を移植することにより、切断された視神経軸索が再生し、脳内でのシナプスを再形成するということが形態的、生理学的に証明されてきた。現在のところ、坐骨神経移植によって、網膜神経節細胞総数の約1-5%しか軸索を再生していないが、生存している細胞が多く存在するという報告がある。しかしながら、網膜神経節細胞であることの同定の難しさのため、軸索を再生していない生存細胞の諸性質については明らかにされていない。そこで、本研究では我々が開発した網膜神経節細胞を特異的に認識するモノクロナル抗体C38を用い、Granular Blue (GB) による逆行標識を併用して、末梢神経移植による軸索再生細胞と軸索を再生していないが生存している網膜神経節細胞を区別し、それらの数、分布および細胞体の大きさについて比較検討した。

#### 【方法、ならびに成績】

成熟したフェレットの網膜神経節細胞をGBで予め逆行性に標識しておき、二日後に網膜の伸展標本でC38モノクロナル抗体免疫染色を行った。網膜の中心部と周辺部で別々に調べたところ、C38で染色された細胞の90%以上が逆行標識された網膜神経節細胞であることが確認された。また、C38抗体によって染色された細胞の網膜伸展標本上の密度分布は、Henderson (1985) によるフェレット網膜における網膜神経節細胞の密度分布の報告とほぼ一致した。従って、C38抗体はフェレット網膜において、ほとんど全ての網膜神経節細胞を特異的に染色することが確認できた。

末梢神経を移植したフェレットの網膜で軸索再生した神経節細胞と、軸索は再生していないが生存している神経節細胞の数と分布及び細胞体の大きさを、網膜の中心部と周辺部で別々に調べた。切断された視神経に末梢神経を移植し、二ヶ月後に移植神経片にGBを注入した。二日後に動物を固定液で灌流して網膜伸展標本を作製し、C38抗体で染色した。視神経を切断された網膜ではほとんどの神経節細胞が変性するのに対して、末梢神経を移植した網膜では多くの神経節細胞が生き残っていることが観察された。特に、周辺部の網膜では約47%の神経節細胞が生存しており、中心部では約18%の神経節細胞が生存していることが確認された。逆行標識された軸索再生神経節細胞の割合は、中心部と周辺部でそれぞれ5%と2%で、両者の間に有意な差は認められなかった。

次に、軸索再生神経節細胞と生存している神経節細胞の細胞体の大きさを比較した。軸索を移植片まで伸ばしてい

ないが生存している神経節細胞の細胞体の直径は、網膜の中心部では8.3~22.5  $\mu\text{m}$ に分布し、平均13.1  $\mu\text{m}$ で、網膜の周辺部では8.8~20.1  $\mu\text{m}$ に分布し、平均12.5  $\mu\text{m}$ であった。軸索を移植片まで伸ばしている軸索再生神経節細胞の細胞体の直径は、網膜の中心部では10.7~25.4  $\mu\text{m}$ に分布し、平均18.1  $\mu\text{m}$ で、網膜の周辺部では15.2~26.2  $\mu\text{m}$ に分布し、平均20.7  $\mu\text{m}$ であった。このように網膜の中心部と周辺部ともに軸索再生細胞は比較的大型に分布するという結果が観察された。周辺部での軸索再生細胞のサンプル数は少なかったので、より広い範囲で調べたが、同じ結果が得られた。これらのことから、生存している神経節細胞には小型、中型が多いが、生存しかつ軸索再生した神経節細胞では大型細胞の割合が高いことが明らかになった。

#### 【総括】

軸索切断された網膜神経節細胞に対して、末梢神経を移植した網膜での神経節細胞の生存率は、網膜周辺部で特に高くなっていることが明らかになった。また、網膜中心部、周辺部ともに生存している神経節細胞の中で、細胞体の大きい細胞が末梢神経移植によって軸索再生したと考えられる。これらの結果は、末梢神経移植により、視神経切断による網膜神経節細胞の死滅を防ぎ、従来考えられてきた以上に、視神経の軸索再生を促進させうる可能性が示され、従って今後、神経栄養因子の眼球内投与との併用によって視覚機能をより大幅に回復できる可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

成熟した哺乳動物の中樞神経細胞は、一度その軸索が損傷を受けると軸索再生せず、逆行性変性に陥りやがて死滅する。中樞神経細胞の一つである網膜神経節細胞も、その軸索である視神経が切断されると逆行性変性を来し、細胞死に至る。しかしながら、最近、視神経切断端に自らの坐骨神経を移植することにより、切断された視神経軸索が再生し、脳内でのシナプスを再形成することが形態的、生理学的に証明されてきた。現在のところ、坐骨神経移植によって、軸索再生する網膜神経節細胞は総数の約5%にすぎないが、軸索は再生せず生存している細胞も存在するという報告がある。しかしながら、網膜神経節細胞であることの同定の難しさのため、軸索を再生していない生存細胞の諸性質については明らかにされていない。

本研究は我々が開発した網膜神経節細胞を特異的に認識するモノクロナル抗体C38を用い、Granular Blue (GB)による逆行標識を併用して、末梢神経移植による軸索再生細胞と軸索を再生していないが生存している網膜神経節細胞を区別し、それらの数、網膜内分布および細胞体の大きさについて詳しく検討し、次の結果を得た。1) 成熟したフェレットの網膜においてC38抗体はほとんど全ての網膜神経節細胞を特異的に染色する。2) 末梢神経を移植したフェレットの網膜では多くの小型、中型の神経節細胞が生存し、その生存率は網膜周辺部で特に高くなっている。3) 網膜中心部、周辺部ともに生存しかつ軸索再生した神経節細胞は大型細胞の割合が高い。これらの結果から、末梢神経移植により、視神経切断による網膜神経節細胞の細胞死を防ぎ、従来考えられてきた以上に、視神経の軸索再生を促進させうる可能性が示された。従って今後、神経栄養因子の眼球内投与との併用によって視覚機能をより大幅に回復できる可能性がでてきた。

以上、本研究は、高等動物の網膜-視神経系において、末梢神経移植が多くの網膜神経節細胞の細胞死を防ぎ、視神経の軸索再生を促進させうる可能性を証明したものであり、よって学位の授与に値するものと考えられる。