



Title	Myelin-Associated Glycoprotein Reduces Axonal Branching and Enhances Functional Recovery After Sciatic Nerve Transection in Rats
Author(s)	富田, 興一
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49018">https://hdl.handle.net/11094/49018</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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	富田興一
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 21557 号
学位授与年月日	平成 19 年 9 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Myelin-Associated Glycoprotein Reduces Axonal Branching and Enhances Functional Recovery After Sciatic Nerve Transection in Rats (ミエリン関連タンパク MAG は軸索分枝を抑制し、ラット坐骨神経損傷後の機能回復を促進する)
論文審査委員	(主査) 教授 細川 互  (副査) 教授 祖父江憲治 教授 吉川 秀樹

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

末梢神経軸索は損傷後再生することが知られているが、現在の治療においても完全な機能回復が得られることは殆ど無い。特に、顔面神経や上肢の主要神経等の混合神経損傷後においては、軸索再生の量のみでなく、過剰支配 (hyperinnervation) や過誤支配 (misdirection) の頻度といった神経再生の質が重要であると考えられている。後者を向上させる手段の一つとして、軸索損傷直後に起こる過剰な軸索分枝を抑制することが有効ではないかと我々は考えている。今回軸索分枝を抑制する候補因子として、正常ミエリンに存在する軸索再生阻害因子 MAG (Myelin-Associated Glycoprotein) に注目した。

#### 【方法ならびに成績】

まず、ラット後根神経節細胞を MAG の存在下にて初代培養し、その細胞形態の変化を観察した。その結果、培養 24 時間後において、MAG 投与群では対照群に比して有意に軸索分枝の数が抑制された。MAG は細胞骨格を制御する Rho ファミリー G 蛋白 RhoA を活性化することにより軸索再生を阻害することが知られている。そこで、MAG の軸索分枝抑制効果における RhoA 活性化の関与を調べる目的で、RhoA シグナルの下流に位置する Rho kinase の阻害因子である Y27632 を MAG と共に後根神経節細胞へ投与、同様に培養した。その結果、MAG の軸索分枝抑制効果が消失した。このことにより MAG がラット後根神経節細胞における RhoA を活性化し、軸索分枝を抑制することが示唆された。次に、MAG の軸索分枝抑制効果を *in vivo* にて検証する目的で、全軸索の数%にのみ蛍光タンパク YFP を発現するトランスジェニックマウスにおいて、野生型マウスより同種腓骨神経移植を施したモデルを作成した。MAG をフィブリン糊と混合することにより約 3 日間損傷部へ徐放投与し、術後 10 日目における移植神経内の軸索再生形態を蛍光顕微鏡下にて観察した。その結果、MAG 投与群では PBS を投与した対照群に比して有意に移植神経内の軸索分枝の程度が小さかった。また、この効果は *in vitro* における結果と同様に、Y27632 投与により消失した。さらに、再生神経における活性化型 RhoA の量を GTP-Rho pull down assay により調べたところ、MAG 投与群では対照群に比して有意に活性化型 RhoA の量が増加していた。最後に、MAG 投与による再生軸索の形態変化が混合神

経損傷後の機能回復にどう影響するかを調べる目的で、ラット坐骨神経損傷モデルを作成した。マウスモデルと同様、MAG を損傷部に対して局所的に約3日間徐放投与し、足跡分析による機能回復及び逆行性神経トレーサー二重標識法による hyperinnervation, misdirection の程度の評価を行った。その結果、MAG 投与群においては対照群に比して、有意に機能回復が促進された。また、MAG 投与群における hyperinnervation 及び misdirection の頻度は、何れも対照群に比して有意に減少した。

#### 【総括】

軸索再生阻害因子であるミエリン関連タンパク MAG は軸索分枝抑制効果も有することが明らかとなった。局所的、一過性投与によりラット坐骨神経損傷後軸索再生の質が向上し、機能回復が促進された。混合神経損傷後の再建における新たな治療アプローチとなり得ると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

申請者は、顔面神経や上肢の主要神経損傷後の機能回復が依然として満足いくものでない原因の一つが、神経再生の質的な要素、すなわち過誤支配等の異常な神経再支配にあると考えている。またこのような異常な神経再支配の一部は、過剰な軸索分枝に起因すると考え、これを抑制することを研究目的とした。軸索分枝を抑制する分子の候補としてミエリン関連タンパク MAG に注目し、この分子が *in vitro* 及び *in vivo* において末梢神経軸索再生時の軸索分枝を有意に抑制することを明らかにした。さらに MAG を一過性に局所投与することにより、通常の縫合術では殆ど機能回復を得ることができないラット坐骨神経切断モデルにおいて、有意に機能回復が促進されることを明らかにした。これらの成果は、現在のマイクロサージャリーの技術を以ってしても完全な機能回復が得られない症例に対する新たな治療アプローチにつながる可能性があり、学位の授与に値すると思われる。