



Title	Presence of Trans-synaptic Neurons Derived From Olfactory Mucosa Transplanted After Spinal Cord Injury
Author(s)	森脇, 崇
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52002
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	森脇 崇 Takashi Moriwaki
論文題名 Title	Presence of Trans-synaptic Neurons Derived From Olfactory Mucosa Transplanted After Spinal Cord Injury (脊髄損傷後の移植嗅粘膜組織由来神経軸索間介在神経の存在)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 自家嗅粘膜移植を実施した完全脊髄損傷被験者の中で、術後3年後に装具使用下での安定した歩行ができるまで下肢運動機能が回復した症例を経験している。しかし、ヒトでの下肢運動機能回復機序の解明はまだ十分とは言えない。我々はこれまでに嗅粘膜組織が軸索再生の有用な足場(scaffold)となり、嗅神経鞘細胞が神経栄養因子分泌能を持ち、さらに、嗅粘膜基底層にある水平基底細胞からolfactory sphere の作成が可能であることを報告してきた。本研究は脊髄損傷上位の残存損傷軸索と下位の残存神経細胞とを接続する軸索間介在神経細胞 "relay-neuron" が移植嗅粘膜組織から供給されるかどうかを検討した。 〔方法(Methods)〕 8週齢雄SD (Sprague-Dawley) ラットに脊髄損傷(脊髄圧挫モデルT6-7, 150kdyn)を作成し、2週間後にEGFP (enhanced green fluorescent protein) ラットから採取した嗅粘膜組織を同部位へ移植した。移植後8週間後に脳運動領野へBDA (biotinylated dextran amine) 神経軸索トレーサーを、移植後9週間後に腰髄へ逆行性trans-synaptic WGA (wheat germ agglutinin) 神経軸索トレーサーを注入し、移植後10週間後に固定した。嗅粘膜群 (OM; olfactory mucosa)、呼吸粘膜群 (RM; respiratory mucosa: 神経前駆細胞を含まない粘膜)、損傷単独PBS群を設定した。 脊髄損傷・移植部位と脊髄損傷・移植部上位および下位で10μm幅の脊髄水平断標本を作製し、GFP/BDA/WGA/DAPIの4重免疫染色を行った。脊髄損傷・移植部位ではGFP陽性細胞を探索し、当該細胞体内のWGA陽性樹状突起と上位から到達するBDA陽性軸索末端とがそれぞれ重なる細胞をカウントしRM群と比較した。脊髄損傷・移植部上位および下位では、脊髄後索内のBDA陽性軸索、WGA陽性軸索の数をカウントしRM、損傷単独PBS群と比較した。 〔成績(Results)〕 脊髄損傷・移植部位で、形態学的関係からGFP/BDA/WGA/DAPI陽性の細胞は、嗅粘膜由来の介在神経細胞 "relay-neuron" であると考えられ、その数はOM; 2.33 ± 0.509, RM; 0.133 ± 0.09 ($P < 0.01$) [結果①]であった。 脊髄損傷・移植部上位および下位では、移植部位を超えて下位へ到達したBDA陽性軸索数はOM; 10.58 ± 3.11, RM; 5.22 ± 1.07, PBS; 1.5 ± 0.379 ($P < 0.05$) [結果②]、同様に移植部位を超えて上位へ到達したWGA陽性軸索数はOM; 17.77 ± 1.7, RM; 4.88 ± 1.37, PBS; 1.77 ± 0.641 ($P < 0.01$) [結果③] といずれもOM群が対照群に比べ有意に多い結果となった。結果①からOM群で移植嗅粘膜組織由来"relay-neuron" の存在が示され、結果②で移植部位を超えてカウントされたBDA陽性軸索は、脊髄圧挫部位周囲を通過する脊髄残存・再生軸索(脊髄固有介在神経を介するもの除く)そして圧挫移植部位を貫通する再生軸索(嗅粘膜由来"relay-neuron" を介するものを除く)を示しOM群が多かった。結果③で移植部位を超えてカウントされたWGA陽性軸索は、脊髄圧挫部位周囲を通過する脊髄残存・再生軸索(脊髄固有介在神経を介するもの含む)そして圧挫移植部位を貫通する再生軸索(嗅粘膜由来"relay-neuron" を介するものを含む)を表しOM群が多かった。 〔総括(Conclusion)〕 ラット脊髄圧挫モデルを用いて嗅粘膜移植を実施し、ラット脊髄損傷上位の残存損傷軸索と下位の残存神経細胞を接続する移植嗅粘膜組織由来軸索間介在神経 "relay-neuron" の存在が確認された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 森脇 崇		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 吉澤 俊樹
	副 査	大阪大学教授 望月 秀樹
	副 査	大阪大学教授 山下 俊英

論文審査の結果の要旨

〔目的 (Purpose)〕

自家嗅粘膜移植を実施した完全脊髄損傷被験者の中で、術後3年後に装具使用下での安定した歩行ができるまで下肢運動機能が回復した症例を経験している。しかし、ヒトでの下肢運動機能回復機序の解明はまだ十分とは言えない。これまでに脊髄損傷部へ移植された嗅粘膜組織が軸索再生の有用な足場 (scaffold) となり、嗅神経鞘細胞が神経栄養因子分泌能を持ち、さらに、嗅粘膜基底層にある水平基底細胞から olfactory sphere の作成が可能であることが報告されている。本研究は脊髄損傷上位の残存損傷軸索と下位の残存神経細胞とを接続する軸索間介在神経細胞 "relay-neuron" が移植嗅粘膜組織から供給されるかどうかを検討した。

〔方法 (Methods)、成績 (Results)〕

8週齢雄SD (Sprague-Dawley) ラットに脊髄損傷 (脊髄圧挫モデルT6-7, 150kdyn) を作成し、2週間後にEGFP (enhanced green fluorescent protein) ラットから採取した嗅粘膜組織を同部位へ移植した。移植後8週間後に脳運動領野へBDA (biotinylated dextran amine) 神経軸索トレーサーを、移植後9週間後に腰髄へ逆行性trans-synaptic WGA (wheat germ agglutinin) 神経軸索トレーサーを注入し、移植後10週間後に固定した。嗅粘膜群 (OM; olfactory mucosa)、呼吸粘膜群 (RM; respiratory mucosa: 神経前駆細胞を含まない粘膜) を設定した。

脊髄損傷・移植部位10mm幅の脊髄水平断標本を作製し、GFP/BDA/WGA/DAPI陽性の細胞は嗅粘膜由来の介在神経細胞 "relay-neuron" であると考えられ、その数はOM; 2.33 ± 0.509 , RM; 0.133 ± 0.09 ($P < 0.01$) であった。

〔総括 (Conclusion)〕

ラット脊髄圧挫モデルを用いて嗅粘膜移植を実施し、ラット脊髄損傷上位の残存損傷軸索と下位の残存神経細胞を接続する移植嗅粘膜組織由来軸索間介在神経 "relay-neuron" の存在が確認された本研究結果は、博士 (医学) の学位授与に値する。