The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Limited functional recovery in rats with complete spinal cord injury after transplantation of whole-layer olfactory mucosa |
| Author(s) | 青木, 正典 |
| Citation | 大阪大学, 2011, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/58123 |
| 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">大阪大学の博士論文について</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

【113】

| | |
|---|---|
| 氏　　名 | 青　木　正　典（あお き まさ のり） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（医　学） |
| 学　位　記　番　号 | 第　２４４３５　号 |
| 学位授与年月日 | 平成 23 年 3 月 25 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第４条第１項該当<br>医学系研究科外科系臨床医学専攻 |
| 学　位　論　文　名 | Limited functional recovery in rats with complete spinal cord injury after transplantation of whole-layer olfactory mucosa<br>（完全脊髄損傷モデルラットへの嗅粘膜移植の機能改善の検討） |
| 論　文　審　査　委　員 | （主査）<br>教　授　吉峰　俊樹<br>（副査）<br>教　授　吉川　秀樹　　教　授　金田　安史 |

## 論　文　内　容　の　要　旨

〔 目 的 〕

脊髄損傷後の機能回復を目的とした移植治療はこれまでにも様々な方法が試みられている。その中でも嗅粘膜(olfactory mucosa:OM) に由来する細胞を移植する方法に注目し、本研究を行った。OM は軸索伸長作用を有するとされる嗅神経鞘細胞(olfactory ensheathing cell:OEC)を含む固有層と、OEC や嗅感覚神経(olfactory sensory neuron:OSN)へ分化し神経前駆細胞の機能を持つ基底細胞が含有される粘膜層からなりほぼ終生再生が行われている組織である。これまでに OEC や OM 固有層の脊髄損傷モデルへの移植で軸作再生促進と運動機能改善が報告されているが、OM 全層移植での報告はない。OM 全層移植は簡便で安全な神経再生法になりうる可能性があると考え、ラット脊髄損傷モデルを用いてその可能性について検討した。

〔 方法ならびに成績〕

方法:11 週齢の雌 Wistar ラットの脊髄を露出し手術用顕微鏡下に T10 のレベルで脊髄を完全に離断し 2mm 幅の間隙を作成した。損傷 2 週間後に再度開創し脊髄を露出して欠損部位の瘢痕組織を除去した。この間隙に同系ラットから採取した OM を細断して移植した（OM 群 n=18)。コントロールとして OEC と OSN を含まない呼吸粘膜(respiratory mucosa:RM)の移植(RM 群 n=13)、fibrin glue のみ充填(negative control:NC NC 群 n=6)を作成した。移植後より 1 週毎に Basso, Beattie and Bresnahan scale（BBB scale： 0 点（完全麻痺）から 21 点（正常歩行）で評価)を用いて下肢運動機能評価を行った。また、移植後 6 週目にステレオ手術装置を用いて(BDA)を下肢運動野に注入するラットを作成し皮質脊髄路の評価を行った。移植後 8 週目に移植部位を含む脊髄を採取し、空洞面積の測定と glial fibrillary acidic（GFAP)、p75 neurogroth factor receptor（p75NGFR)、β-tublin typeⅢ（Tuj1)、5-hydroxytryptamine（5HT）よる免疫組織学的評価を行った。

成績：BBB スケールは OM、RM 両群とも観察期間中には増加傾向を認めた。2-8 週後では OM 群の BBB が RM 群に比べると有意に良好な数値を示した。8 週後の OM 群での BBB の平均は 5.0±0.632（mean±SEM）でありこれは、2-3 箇所の後肢関節での運動が認められることを意味する。これに対して RM 群の BBB の平均 2.8±0.551 であった。OM 群のみで損傷部周囲に形成される空洞面積が機能回復と逆相関を示し、空洞形成が運動機能の回復を妨げる要因であると考えられた。移植部位における OEC の存在を GFAP と p75NGFR の染色によって行った。移植後 4 週の移植部には GFAP と p75NGFR ともにに染色される OEC の残存が確認された。移植後 8 週では OEC はわずかであった。RM 群と NC 群では GFAP と p75NGFR に染色される細胞は確認されなかった。これらの結果は OM 群で確認された OEC が神経軸索の再生に寄与するものを示す。また神経細胞、軸索の特異的なマーカーである Tuj1 が、OM 群の移植部位内のみで確認され、RM 群の移植部位内では確認されなかった。さらに OM 群では BDA が軸索に沿って運動皮質から損傷脊髄の尾側まで順行的に輸送されていることが観察され、OM 群では Serotonin fiber のマーカーである 5HT 陽性の軸索が損傷脊髄の尾側で有意に高頻度に認められた。OM の移植が神経軸索の再生や Serotonin fiber の伸張を促し、下肢運動機能の改善をもたらしたものと考えられた。

〔 総 括 〕

OM 全層移植は脊髄損傷後の運動機能回復に有効である可能性が示唆され、神経再生の移植用組織として有用と考えられた。ただし単独ではその効果は限定的であり、更にその効果を増強する方法との併用が必要であると考察した。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は脊髄損傷によって生じる運動機能障害の改善を目的とした嗅粘膜移植治療法の基礎的研究である。脊髄損傷後に生じる運動機能障害に対して、神経再生を促すことにより機能回復をめざす試みは数多くなされている。その中で安全性や実用性が高いとされている自己嗅粘膜(olfactory mucosa:OM) 全層を移植する方法は、その基礎となる研究が十分になされていなかった。本研究では、その有効性と問題点を検討した。脊髄損傷モデルラットの亜急性期に OM 全層を移植し、その後下肢運動機能の評価と組織学的検討を行った。その結果、OM 移植群では有意に下肢運動機能が改善し、それには神経軸索の再生が寄与していること、さらに脊髄損傷後に生じる損傷部周囲の空洞形成が神経軸索再生の妨げとなることを報告した。これらのことから現在の方法の OM 移植での効果は限定的であり、この解決と対策が必要であることを提起した。本研究は嗅粘膜移植治療法の臨床応用の発展に寄与するものと考えられ、学位論文に値する。