

Title	Neuropilin-1-mediated pruning of corticospinal tract fibers is required for motor recovery after spinal cord injury
Author(s)	中西, 徹
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72480
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、 〈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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 中西 徹	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 山下 俊 英
	副 査 大阪大学教授 望 月 香 樹
	副 査 大阪大学教授 梶 山 幸 平
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>脊髄損傷によって主要な運動回路の一つである皮質脊髄路が遮断されると重度の運動麻痺が生じる。脊髄を含む中枢神経系は一度損傷を受けると再生が困難なため、運動麻痺は長期に渡って残存する。運動麻痺を回復する方法の一つに、皮質脊髄路の再編による新たな神経回路の形成がある。本論文では、皮質脊髄路の再編過程で生じる側枝の刈り込みという現象に着目し、その分子メカニズムと運動機能回復への寄与を明らかにしている。具体的には、大脳皮質運動野に発現するNeuropilin-1(Nrpl)という分子が側枝の刈り込みに必要であることを示した。また、Nrplのノックアウトによって側枝の刈り込みを抑制すると、脊髄損傷後の運動機能回復が阻害されることを示した。これらの結果は、脊髄損傷後の運動機能回復に関わる新たなメカニズムを提示しており、新たな治療法の開発に向けた科学的基盤になることが期待できる。以上のことから、本論文は学位の授与に値すると考えられる。</p>	

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	中西 徹
論文題名 Title	Neuropilin-1-mediated pruning of corticospinal tract fibers is required for motor recovery after spinal cord injury (Neuropilin-1による皮質脊髄路の軸索側枝の刈り込みは脊髄損傷後の運動機能回復に寄与する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>皮質脊髄路は大脳皮質運動野からの指令を骨格筋へと伝え、四肢の運動を制御する。脊髄損傷によって皮質脊髄路が断たれると重篤な運動障害が生じる。脊髄を含む中枢神経系は一度損傷を受けると再生が困難なため、脊髄損傷後の運動障害は長期に渡って残存する。しかしながら、近年の研究によって、損傷を受けた皮質脊髄路が側枝を伸ばし、損傷を免れた脊髄固有ニューロンと接続し新たな迂回路を形成することで、脊髄損傷後の運動機能回復に寄与することが明らかとなった。この過程で、皮質脊髄路は一度過剰な側枝を伸長した後、標的細胞とシナプスを形成した側枝のみが残り、余分な側枝は刈り込みを受ける。側枝の刈り込みは神経経路を精密化する役割を担っていると考えられるが、その詳細なメカニズムについては不明な点が多い。本研究では、側枝の刈り込みの分子メカニズムと、脊髄損傷後の運動機能回復における側枝の刈り込みの意義について検証を行った。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>①脊髄不完全損傷モデルマウスの運動野に順行性トレーサーを注入し、皮質脊髄路からの側枝を標識した。側枝の数を経時的に測定した結果、側枝はSham群に比べ損傷後10日目に増加し、損傷後10日目から28日目にかけて減少していた。これらの結果から、側枝の刈り込みは損傷後10日目から28日目にかけて生じることが示唆された。</p> <p>②脊髄損傷後のマウスの運動野におけるNeuropilinとPlexinAファミリーの発現を、Real-time PCR法により経時的に解析した。その結果、Neuropilin-1(Nrp1)が損傷後14日目に発現上昇していた。また、in situ hybridization法により、Nrp1は主に運動野第5層のニューロンに発現していることが明らかとなった。</p> <p>③マウスの運動野にNrp1 shRNAを発現するアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを注入し、損傷後10日目、28日目における側枝数を評価した。その結果、Nrp1のノックダウン群において、損傷後10日目の側枝数に変化がなかったのに対し、損傷後28日目の側枝数が有意に増加していた。また、Nrp1 floxedマウスの運動野にCreを発現するAAVベクターを注入し、同様の解析を行った結果、Nrp1のノックアウト群においても損傷後10日目の側枝数に変化はなく、損傷後28日目の側枝数が増加していた。これらの結果から、Nrp1が側枝の形成ではなく、側枝の刈り込みにおいてのみ必要であることが示唆された。</p> <p>④側枝の標的である脊髄固有ニューロンにSemaphorin3A(Sema3A)が発現しているかを、逆行性トレーサーと免疫染色を用いて検証した。その結果、長脊髄固有ニューロンにおいてSema3Aの発現が損傷後に減少するのに対して、短脊髄固有ニューロンではSema3Aの発現が損傷後も維持されていた。</p> <p>⑤脊髄損傷後のNrp1 floxedマウスの運動野にCreを発現するAAVベクターを注入した後、Ladder walk testにより下肢の運動機能の評価した。その結果、Nrp1のノックアウト群において、運動機能の回復が抑制された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>以上の結果から、Nrp1を介した側枝の刈り込みは、脊髄損傷後の運動機能回復に寄与することが示唆された。</p>	