

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	間庭 圭一
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 833 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Tomographic optical imaging of cortical responses after crossing nerve transfer in mice (光学的断層イメージングによる交差神経移植後のマウス体性感覚野応答の解析)
論文審査委員	主査 教授 松田 健 副査 教授 遠藤 直人 副査 教授 佐藤 昇

博士論文の要旨

背景と目的

上肢に大きな外力が掛かると、腕神経叢引き抜き損傷が発生することがある。この治療法の一つに、患側の上肢の神経を移植神経片によって健側の C7 神経根に繋ぐ、交差神経移植という術式がある。この術式により、患側上肢の神経は健側へと繋ぎかえられ、術後の機能回復が期待される。しかし、左右で情報が入れ替わるため、何らかの中枢メカニズムの関与が必要である。本研究では交差神経移植の治療効果の神経学的機序を理解するため、マウスモデルを用い、交差神経移植後の脳活動をフラビン蛋白蛍光イメージングによって解析した。特にマクロ共焦点顕微鏡を用いた光学的断層イメージングにより、皮質の深さ方向の活動分布がどのように変化するかを解析した。

方法

生後 8 週間のマウスにおいて左側の正中神経および尺骨神経の遠位断端と、右側の正中神経および尺骨神経の中樞側断端を、遊離坐骨神経移植にて接続した。処置の 8 週間後、左前足への振動刺激により誘発した一次体性感覚野 (S1) の応答を、酸素代謝を反映するミトコンドリアフラビン蛋白質蛍光の活動依存的変化を利用して可視化した。特に、皮質活動の深さ方向の分布を解析するため、マクロ共焦点顕微鏡を用いた。

結果

未処置のマウスでは、左前足への刺激に対する皮質応答は主に対側の右側 S1 で認められた。交差神経移植を行ったマウスでは、左前足刺激により左側 S1 に加え、右側 S1 においても明白な皮質応答が確認された。未処置マウスにおける右側 S1 の応答は IV 層への視床入力により生じ、処置マウスの応答は左側 S1 から右側 S1 の II/III 層への脳梁入力の仲介により生じたものと思われる。この可能性について検証するため、マクロ共焦点顕微鏡を用いて、フラビン蛋白蛍光の断層イメージングを行った。未処置マウスにおいては IV 層のフラビン蛋白質蛍光応答は II/III 層よりも顕著であった。これに対し、処置マウスでは II/III 層の活動が IV 層よりも顕著であり、また、皮質応答の潜時や時間経過も未処置マウスよりも長かった。これは、処置マウスにおいて新たに出現する右側 S1 の活動は対側 S1 から II/III 層への脳梁入力によって生じるという推測を裏付けるものである。

考察

腕神経叢引き抜き損傷は、交差神経移行により損傷神経の末端を病変の対側にある健常な腕神経叢と繋げることにより修復可能である。この処置により両脳半球の S1 機能と運動皮質機能が再建される。従って、処置後特に損傷と対側の S1 において皮質機能の大規模な再編成が誘発されると予想される。実際、損傷の対側で再建された活動が経頭蓋フラビン蛋白質蛍光画像撮影により可視化されたと報告されている。この結果は対側 S1 の神経活動が、同側 S1 から対側 S1 への脳梁を介した神経活動の伝達により再建されたことを示唆する。しかしながら、対側 S1 で新たに生ずる活動の詳細については知られていない。感覚野は主に IV 層において視床入力を受け取る。一方脳梁を介する入力は、主に II/III 層に終わる。従って、対側 S1 で再建される活動は深さや時間経過が、未処置マウスの S1 領域の活動とは異なっていることが予想される。しかし皮質活動の深さ方向の分布は、従来の脳表面からの光学計測法では確認できない。さらに、フラビン蛋白質蛍光シグナルの経時的変化は、皮質表面の活動依存性の血行動態応答により強く影響され、予想される時間経過の差を確かめることもできない。そこで、本研究ではこれらの可能性について検証するため、マクロ共焦点顕微鏡を用いてフラビン蛋白質蛍光シグナルの光学的断層イメージングを行うという新しい方法を試みた。その結果、処置マウスにおいて II/III 層のフラビン蛋白質蛍光応答は IV 層よりも顕著であり、皮質応答の潜時は未処置マウスのそれよりも長かった。以上の結果は、マクロ共焦点顕微鏡を用いたフラビン蛋白質蛍光シグナルの光学的断層イメージングが可能であり、また活動依存的な血流応答の影響を受けにくいことを示すものである。またこの新しい方法を用いて得られた結果は、申請者らの予想と合致しており、交差神経移植によって皮質回路の大規模な再編成が誘発されるという仮説を裏付けるものである。

#### 審査結果の要旨

マウス正中神経-尺骨神経間の神経交叉移行モデルを用い、交差神経移行術後の脳活動をフラビン蛋白質蛍光イメージングによって解析した。前足への振動刺激により誘発した一次体性感覚野 (S1) の応答を、酸素代謝を反映するミトコンドリアフラビン蛋白質蛍光の活動依存的变化を利用して可視化、これをマクロ共焦点顕微鏡を用いた光学的断層イメージングを用いて応答部位皮質の広がりならびに深さ方向の活動分布の変化を解析した。

交差神経移植術後は特に損傷側と対側の S1 において皮質機能の大規模な再編成が誘発されることが確認され、これは対側 S1 の神経活動が、同側 S1 から対側 S1 への脳梁を介した神経活動の伝達により再建されたことを示唆している。新たに開発した光学的断層イメージングにより、部位のみならず、その深さ方向の解析が可能となり、マウス交差神経移植モデルにおいては視床からの入力を受ける IV 層と、脳梁を介する II/III 層とを区別することが可能であった。これを用いて対側 S1 で新たに生ずる活動が未処置マウスの S1 領域の活動とその深さや時間経過が異なることを明らかとし、交差神経移植で大規模な皮質回路の再編成が誘発されることを示した。

以上の結果に加え、生体において脳表面からの深さ方向の活動分布の解析を行う新たな方法を確立した点において画期的な研究であり、学位論文としての価値を認める。