

氏名	津吉秀樹
学位	博士(医学)
学位記番号	新大院博(医)第201号
学位授与の日付	平成19年 3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Sprouting of sensory neurons in dorsal root ganglia after transaction of peripheral nerves (末梢神経切断後の後根神経節内における知覚神経細胞の出芽)
論文審査委員	主査 教授 車田正男 副査 教授 遠藤直人 副査 教授 柴田実

博士論文の要旨

【はじめに】

末梢神経切断後に生じる神経の反応を明らかにすることは、末梢神経の再生促進、機能回復のための神経再建術の開発において重要である。神経再生の機序は次第に明らかにされつつある。これまでも末梢神経の傷害により脊髄後根神経節(DRG)の中で神経の出芽が生じ、細胞体周囲にバスケット構造を形成することが示され、この現象が末梢神経損傷後に生じる神経因性疼痛の原因であろうとされている。出芽した神経は交感神経と DRG 神経の両方が報告されている。しかしいずれの場合も出芽した枝を直接示したものはなく、その出芽部位も明らかにされていない。我々は LacZ 遺伝子組み換えアデノウイルスによる神経標識法を駆使し、一本の軸索とそれを持つ神経細胞全体を完全にトレースし、末梢を切断された神経の形態的反応を経時的に観察してきた。今回 DRG 細胞の出芽と明らかな分岐部の所見を得たので報告する。

【材料と方法】

Wistar rat の坐骨神経を切断し、切断端に tau-LacZ 遺伝子組み換えアデノウイルスを感染させた。術後 1～6 週後に灌流固定し、坐骨神経を脊髄と共に取り出し、X-gal で発色した。DRG を双眼実体顕微鏡で観察し、染まった細胞体と軸索、突起の形態、走行を検討した。

【結果】

実験した約 50 個体から得られた DRG の中に観察された多くの標識細胞は典型的な擬単極の形態を示した。18 個の DRG に出芽と思われる分岐した突起が観察された。このような突起は術後のどの週の標本においても観察された。

術後 2 週で固定した標本に短い突起が観察されたが、1 週で既に十分な発達を示すものもあった。このような短突起は 3 週以後の標本には観察されなかった。新たな出芽と思われる突起の出

芽部位は全て stem process の soma に近いところからであり、central process あるいは peripheral process からの出芽は観察されなかった。出芽した突起が途中何度も分岐を繰り返し、複雑な分布を示すものと、通常の DRG 細胞と同じように分岐し、central process あるいは peripheral process に並行して直線的に伸びるものが見られ、成長した突起の伸展形態から直進型と屈曲型の二型に大別できた。すなわち、

1) 直進型：分岐した枝が基本的には DRG の中をオリジナルの central process あるいは peripheral process と並行して伸びるタイプ。このうち伸びた枝の先端が DRG から脱出し中枢側の root に侵入したものが一本観察された。そのほかの枝は DRG の中に収まっていた。

2) 屈曲型：出芽した枝が軸索の走行とは無関係に複雑に蛇行、分岐するタイプ。このタイプに DRG を脱出する枝は認められなかった。標識されていない神経細胞と思われる構造の周囲を取り囲むリング構造を多数形成していた。この構造は網状に囲むのではなく、一本の突起が巻き付くように伸展していた。

出芽が観察された細胞体の直径は 45-63 ミクロン、リング構造の直径は 46-68 ミクロンだった。

【考察】

本研究に用いたウイルスによる標識法では、標識部位が坐骨神経なので、DRG を通過する神経線維とその soma の位置を考慮すると、DRG の中に現れた標識線維と標識細胞は知覚神経節細胞とその突起のみになる。正常な状態では、DRG 細胞は擬単極性であり、それ以外の突起を持たないことは morphometry による研究や電子顕微鏡による発生学的な観察で明らかにされている。よって本研究で観察された出芽は末梢を切断されたことによる知覚神経細胞の直接の反応といえる。

成長した再生芽は、その伸展形式から直進型と屈曲型の二型に分けられた。直進型はオリジナルの擬単極形態の軸索と類似した形態を取ることから機能再建のための枝である可能性がある。一方、伸展する方向に規則性を持たない屈曲型は機能回復の役目を担うとは考えられず、枝が他の知覚神経細胞を取り囲むリング構造は損傷を受けた知覚神経細胞が他の知覚神経細胞に情報を伝達している可能性を示しており、末梢神経損傷後の神経因性疼痛 CRPS type II の原因となっている可能性がある。直進型にはリング構造が見られなかったことから、それぞれの神経細胞に性質の違いがある可能性もあるが、今回の標識法では明らかにできないので今後の課題である。

Liu 等は末梢を切断されると小型神経細胞が出芽し大型神経細胞の周囲にバスケット構造を作ることを報告しているが、本実験では小型の細胞に出芽は観察されず、またリングのサイズも出芽神経と同じであり、Liu 等が示した法則性は確認できなかった。

Ramer 等は末梢を傷害したとき DRG の中の交感神経は術後 4 日に出芽することを確かめている。本研究において 1 週間で既に発達した枝が認められたことは、知覚神経細胞の出芽もまた交感神経と同様、切断後かなり早くから出芽が始まっていることを示唆する。

2 週目に取り出した標本に短い突起が観察された。3 週以後の標本には見られないことから剪定により短縮した可能性は無いと考えられた。よってこれらは出芽したばかりの若い枝であり、出芽は切断から 2 週間前後までに生じていると考えるのが自然であると思われた。

(論文審査の要旨)

ラット坐骨神経を切断し、同時にLacZ遺伝子組み換えアデノウイルスによる神経標識法を用いて標識した。1～6週後に取り出し知覚神経細胞とその軸索の全体をトレースし、後根神経節の中で知覚神経細胞が出芽している所見を得た。多くの標識細胞は典型的な擬単極の形態を示したが、新たな出芽と思われる分岐した突起を持つ細胞も観察された。出芽突起は、オリジナルの軸索と並行して直線的に伸びるもの（直進型）と、途中何度も分岐を繰り返して、他の細胞体周囲を取り囲むようなリング構造を形成するような複雑な分布を示すもの（屈曲型）の二型に大別できた。直進型はオリジナルの擬単極形態の軸索と類似した形態を示すことから機能再建に寄与すると思われた。一方、屈曲型はその形態的特徴から、機能回復というよりは損傷を受けた知覚神経細胞が他の知覚神経細胞に何らかの情報を伝達している可能性が示唆された。

以上、本研究は末梢を切断された神経にLacZ遺伝子組み換えアデノウイルス標識法を施し、脊髄後根神経節細胞の出芽とその分岐部を明らかにした点は重要である。本研究の成果は、末梢神経の再生促進・機能回復のための神経再建術の開発における重要な形態学的所見を提供しており、その点で学位論文としての価値を認める。