【227】

氏　名（本籍）	原（はら）　友紀（ゆき）（山口県）
学位の種類	博　士（医　学）
学位記番号	博甲第3774号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	**PO mRNA expression increases during gradual nerve elongation in adult rats.** （成熟ラットにおける緩徐神経延長時のPO mRNA発現の増加）

主　査	筑波大学教授	医学博士	庄　司　進　一
副　査	筑波大学教授	理学博士	久　野　節　二
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	金　岡　恒　治
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	西　浦　康　正

論文の内容の要旨

（目的）

緩徐な末梢神経の伸長の場合，髄節間距離の延長が起こるが，その分子生物学的メカニズムを明らかにすることを目的とした。

（対象と方法）

成熟ラットを用い，ラット用骨延長器を使い，一日1ミリメーターの伸長速度で15ミリメーターまで伸長した。伸長を行わなかった反対側の坐骨神経をコントロールとした。

1）伸長開始後14日目に大腿中央部で坐骨神経を摘出し，横断切片の光学および電子顕微鏡観察と，ときほぐし標本での髄節間距離測定を行った。

2）伸長開始後3，7，14，21，35日目に大腿中央部で坐骨神経を摘出しRNAを抽出，RT-PCR法でcDNAを作成した。ラットミエリン蛋白Protein O（PO）に特異的なプライマー及びTaqMan probeを用い，リアルタイムPCR法により，mRNAを定量した。内部標準としてGAPDH mRNAも同時に測定し，得られたPO mRNA値を除して補正した。

3）伸長開始後18日目に摘出した坐骨神経の凍結横断切片を作成し，POに特異的なオリゴヌクレオチドプルーブをS35で標識し，in situ hybridizationを行った。

（結果）

1） 組織学的評価

伸長開始後14日目のときほぐし標本での平均髄節間距離は，対象は1,014.3 + − 89.8マイクロメーター，伸長側1,186 + − 84.7マイクロメーターであった。ランビエ絞輪部の観察では91%がnormal，9%がparanodal demyelinationであり，axonal degenerationやremyelinationは認めなかった。横断切片の光学および電子顕微鏡観察で軸索径やミエリン厚に明らかな違いはなかった。

2） リアルタイム PCR における PO mRNA の定量結果

伸長側の PO mRNA 値をコントロール側の PO mRNA 値で除し, 伸長側の発現増加率を求め, 検討した。POmRNA 発現は伸長開始後 3 日目から増加し，伸長開始 14 日目に 160.0 ± 10.7％になった。伸長開始後 35 日目にはコントロール側と同等のレベルまで減少した。

3） in situ hybridization 法における PO mRNA の定量結果

標本上のすべての細胞について細胞上 grain 数を求め，検討した。伸長側では，PO mRNA が房上に発現している像が観察された。10 個以上の grain が細胞上にある細胞の割合を求めると伸長側で 40.7％，コントロール側で 22.7％であった。細胞上の gain 数のヒストグラムを作成し，Mann-Whitney 検定で検討したところ，伸長側で有意に PO mRNA の発現が増加していた。

（考察）

ミエリン蛋白 PO は末梢神経の主要構成蛋白であり，ミエリン産生のマーカーとして用いられている。実験結果から，伸長側では有意に PO mRNA の発現が増加しており，ミエリン産生が促進されていると考えられた。髄節間距離の延長に伴い PO mRNA が増加したことから，髄節間距離の伸長は新たなミエリン鞘の産生によって起こっていることが示唆された。Schwann 細胞は成人になった後も伸長刺激が加われば，ミエリンを合成する能力を保持しているものと考えられた。

（結論）

成熟ラットにおいて，坐骨神経の間接的緩徐伸長すると髄節間距離が延長し，PO mRNA 発現が増加した。末梢神経は新たにミエリンを産生し，髄節間距離を延長することで，伸長刺激に対応しているものと考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

末梢神経を緩徐に伸張することにより，髄節間距離が延長することの分子生物学的メカニズムは，ミエリンの主要構成蛋白である PO が発現増加することであることを証明したことが新知見である。

よって，著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。