

氏名（本籍）	相澤 哲史（東京都）
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博乙第 2966 号
学位授与年月	令和 2 年 5 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	Abnormal pyramidal decussation and bilateral projection of the corticospinal tract axons in mice lacking the heparan sulfate endosulfatases, <i>Sulf1</i> and <i>Sulf2</i> （ヘパラン硫酸エンドスルファターゼ <i>Sulf1/Sulf2</i> 二重欠損マウスにおける皮質脊髄路の錐体交叉異常と両側神経支配の解明および運動機能異常の解析）
主査	筑波大学教授 博士（医学） 武井 陽介
副査	筑波大学准教授 博士（医学） 増本 智彦
副査	筑波大学講師 博士（医学） 大戸 達之
副査	筑波大学助教 博士（医学） 山田 洋

## 論文の内容の要旨

相澤哲史氏の博士学位論文は、軸索ガイダンス異常が生じる変異マウス（ヘパラン硫酸エンドスルファターゼ *Sulf1/Sulf2* ダブルノックアウトマウス）の解析により、このマウスの皮質脊髄路の解剖学的異常と機能的異常を詳細に明らかにしたものである。その要旨は以下の通りである。

### 【序論】

このセクションで著者は、皮質脊髄路の概略とヘパラン硫酸エンドスルファターゼと皮質脊髄路形成の関係に関する先行研究について述べている。すなわち、皮質脊髄路は随意運動の制御に重要な役割を果たしている。皮質脊髄路は大腦皮質運動野の第 V 層錐体細胞等から脊髄灰白質に軸索を投射する長距離の神経路であり、発達段階で正しく軸索を誘導するために多数の軸索ガイダンス分子が必要とされる。先行研究において、ヘパラン硫酸エンドスルファターゼ、*Sulf1* および *Sulf2* 遺伝子を欠損させたダブルノックアウト（double knockout, DKO）マウス胎児脳で、皮質脊髄路が中脳側面を背側に向かって

異常に伸長することが示されたと著者は述べている。

#### 【対象と方法】

このセクションで著者は変異マウスの遺伝子背景等について詳しく述べている。先行研究で用いた C57BL/6 系統の DK0 マウスは生後すぐに死亡するため、皮質脊髓路の生後の発達、特に錐体交叉と脊髓への投射は解析できなかったと述べられている。

最近、著者の所属する研究室で、C57BL/6 と CD-1/ICR の混合遺伝的背景 (50%:50%もしくは 75%:25%) にすると *Sulf1/2* DK0 マウスが成獣まで生存することが判明したため、著者は成獣 DK0 マウスにおける皮質脊髓路の構造と機能を解析することを目的とし実験を行っている。ここで著者は、神経解剖学的解析を皮質脊髓路の染色および順行性トレーシング等によって行い、生理学的解析を運動野の微小刺激による筋電図反応の測定、運動機能評価を種々の行動学的機能評価法により行っている。

#### 【結果】

このセクションで、著者はまず神経解剖学的解析の結果について述べている。皮質脊髓路の染色および順行性トレーシングの結果、*Sulf1/2* DK0 マウスでは皮質脊髓路の成熟後も中脳表面で皮質脊髓路線維が背側に偏位する異常が持続していることを著者は明らかにした。また、錐体交叉では正中近くに位置する線維が正常に正中を交叉する一方で、より外側に位置する線維が同側を伸長していることも著者は明らかにした。脊髓では交叉線維が対側の後索を下行し対側の灰白質に正常に入るのに対し、非交叉線維は同側の側索を下行し同側の灰白質に入ることから、DK0 マウスでは脳の一侧から起始した皮質脊髓路線維が脊髓に両側性に投射していることを著者は示している。さらに著者は電気生理学的解析を行い、野生型マウスでは一侧運動野の微小刺激が対側でのみ前肢筋の筋電図反応を誘発するのに対し、DK0 マウスでは同刺激が両側性の筋電図反応を誘発したことから、皮質脊髓路が両側の運動ニューロンと機能的な連絡を持っていることを示唆している。行動学的解析については、著者は *Sulf1/2* DK0 マウスの皮質脊髓路の異常による機能的影響についてマウスの運動機能評価に用いられるグリッドウォーキング試験、ステアケース試験、シングルペレットリーチング試験を利用して解析し、野生型マウスと比較して、*Sulf1/2* DK0 マウスではこれらの試験で成績が低下しており、運動機能に障害があることが示唆されたと述べている。特に、DK0 マウスはリーチ動作における目標付近での速度制御が野生型のマウスと異なっていたと著者は述べている。

#### 【考察】

このセクションで、著者は研究結果の考察を行い、*Sulf1/2* 遺伝子の破壊により皮質脊髓路の解剖学的異常に加えて機能的異常も生じていることが明らかとなった、と結論を述べている。

## 審査の結果の要旨

#### (批評)

皮質脊髓路は、随意運動の制御にかかわる重要な遠心性神経路である。審査対象論文は、皮質脊髓路

形成に異常をきたす変異マウス (*Sulf1/2* DKO マウス) を研究対象とし、ヘパラン硫酸エンドスルファターゼ欠損が軸索ガイダンス異常を引き起こし、皮質脊髓路にいかなる異常を引き起こすのかを、神経解剖学的解析・電気生理学的・行動学的手法等による多面的な解析を組み合わせ、非常に綿密に明らかにしている。以上の結果は神経科学の重要な課題を解明した意義の高いものであり、データのボリュームとクオリティ、論文の完成度、学位審査での質疑応答の内容全て申し分なく、学位授与に十分な質を持つものである。

令和2年3月9日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、学力の確認を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。