

氏名(本籍)	つるしまひでお 鶴嶋英夫(千葉県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第1,262号		
学位授与年月日	平成6年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	移植による神経組織再構築の基礎的研究		
主査	筑波大学教授	医学博士	岡戸信男
副査	筑波大学教授	医学博士	工藤典雄
副査	筑波大学教授	医学博士	杉下靖郎
副査	筑波大学教授	医学博士	白石博康
副査	筑波大学助教授	医学博士	水澤英洋

論文の要旨

〈目的〉

これまで中枢神経組織の再生は極めて困難なものとしてきた。しかし、近年脳にも再生能力があることが徐々に明らかにされている。特に幼弱な脳組織を生体の脳に移植すると、移植組織から進展した神経軸索が宿主組織に入り込み、シナプスを形成することが明らかになっている。こうした事実から、神経移植が神経回路修復・再生への目的に利用できる可能性が示された。

本研究では失われた神経機能の回復を目指す基礎的研究を行うことを目的として進められた。特に神経移植後に起こる移植組織から宿主への細胞移動に着目した。これまでに欠損神経組織への移植片からの細胞移動と神経回路の構築に関する報告はあるが、本研究では、正常成熟脳でも細胞移動が起きる可能性に検討を加えた。また発生過程でも神経細胞の移動に関与している細胞接着因子 tenascin が、移植組織から宿主への細胞移動の過程でも発現するのか、さらに神経組織の発生や再生の過程に発現することが知られている nerve growth factor(NGF)やその family が移植組織からの細胞移動にも関与するのかを検討した。即ち、本研究では移植組織から正常成熟脳である宿主へ細胞が移動する機構を解明することを目的として行われた。

〈方法〉

胎生14日のラット小脳原基を摘出し、宿主として成熟ラットの小脳半球へ移植を行った。移植組織から宿主へのプルキンエ細胞移動の経過をニッスル染色標本、プルキンエ細胞に特異的な抗 spot 35 蛋白抗体、radial glia を識別する抗 GFAP 抗体による光学顕微鏡および電子顕微鏡レベルでの免疫組織化学法を用いて観察した。また移植組織のプルキンエ細胞と宿主との細胞の鑑別を明確に行うために、

移植側のプルキンエ細胞を最終分裂期に bromodeoxyuridine(BrdU)で標識した。

移植片からプルキンエ細胞が宿主に移動する過程で tenascin が発現するかを免疫組織化学的手法を用いて検討した。また NGF family(NGF, BDNF, NT-3)の発現を in situ hybridization 法によって調べた。

〈結果〉

移植後3週には移植組織に小脳皮質に特徴的な3層の構造がニッスル染色標本で観察された。それ以前、2週からは宿主側に移植片から移動したものと考えられる異所性のプルキンエ細胞が認められた。異所性プルキンエ細胞は形態的にも分化していることが観察された。それらの細胞は BrdU 標識した移植例でも確認できることから、移植片に由来するものであることが明らかとなった。

Tenascin は本来成体ラットの脳では発現されないが、宿主組織中の異所性のプルキンエ細胞周囲には tenascin の発現が観察された。しかし異所性のプルキンエ細胞には NGF family の発現は認められなかった。移植組織内部には BDNF の遺伝子発現が確認され、また移植組織内のプルキンエ細胞と顆粒細胞には NGF レセプターの発現が認められた。

以上の結果から幼弱な神経組織を成体脳に移植しても宿主側へ神経細胞が移動し、分化することが明らかとなった。その際、個体発生過程でしか発現しない細胞接着因子 tenascin が成熟脳での細胞移動に関与している可能性が示唆された。

審 査 の 要 旨

障害脳の機能再建に必要な神経回路の再構築を果たすための基礎的研究として本研究は多くの成果をあげている。評価されるべき第1の研究成果は、移植された幼弱神経組織から宿主である正常な成熟脳に神経細胞が移動し、分化することをプルキンエ細胞に対する特異抗体、分裂細胞の標識法などを駆使して証明した事にある。

第2の成果としては、個体発生の過程に一時的にしか発現しない細胞接着因子 tenascin が移植組織から移動する宿主内の細胞にも発現することを証明したことである。これまでも神経組織の再生は個体発生の過程に出現する機構が再現されることが必要であるなどと言われていたが、このことを物質レベルで証明した研究は極めて希である。更に細胞移動の機構に NGF family が関わる可能性を検討するために in situ hybridization を用いて意欲的に研究を行った。本研究で行われた移植手術は技術的にも高度なものであり、成功率を考えると難しい研究と言える。しかしながら研究結果に信頼性をもたらせるにたる例数が示されており、十分な努力が傾注されてきたことが理解できる。今後の研究の発展に期待したい。

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。