

氏名(本籍)	きぬ がさ とも のり 絹 笠 友 則 (茨 城 県)
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	博 甲 第 3201 号
学位授与年月日	平成 15 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	医学研究科
学位論文題目	新生 Bax 欠損マウスの脊髄運動ニューロンと伸張反射路に対する末梢神経軸索切断の影響
主査	筑波大学教授 医学博士 岡 戸 信 男
副査	筑波大学講師 医学博士 岩 本 義 輝
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) 谷 中 清 之

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

脊髄運動ニューロンと後根神経節 (DRG) ニューロンで観察される発生期の自然細胞死と新生期の末梢神経軸索切断で誘発される細胞死 (axotomy-induced cell death) はアポトーシスにより起こる。末梢標的組織由来の因子がそれぞれの細胞死を調節しているとその機序の詳細は判っていない。また、末梢標的由来因子は脊髄運動ニューロンと DRG ニューロンの分化や伸張反射路の形成に重要な役割を果たしている。アポトーシスの促進因子である Bax の欠損はニューロンの細胞死を抑制することが知られている。本研究では Bax 欠損マウスを用い、脊髄運動ニューロン自然細胞死に対する Bax 欠損の効果および運動ニューロンの形態学的性質に対する Bax 欠損の効果調べる。次に、新生期の末梢神経軸索切断が、脊髄運動ニューロンの生存と DRG ニューロンの中枢投射に与える影響を、Bax 欠損マウスと野生型マウスで調べ比較する。さらに、神経切断により末梢標的との連絡を断たれた状態での新生期伸張反射路の中枢シナプス伝達機能を Bax 欠損マウスで生理学的に評価する。これらにより、脊髄運動ニューロン・DRG ニューロンと末梢標的組織との連絡が、それらのニューロンの発生・分化および伸張反射路の形成に果たす役割を明らかにする。

### (対象と方法)

Bax 欠損マウスを使用した。片側の坐骨神経を出生日に切断、一週齢の第 4 腰髄 (L4) で運動ニューロンと一次求心性線維の形態を脂溶性色素を用いて調べた。運動ニューロンの同定には AChE (Acetylcholinesterase) 染色を使用した。一週齢のマウスの坐骨神経付き脊髄摘出標本作製し、末梢神経の電気刺激に対する応答を L4 前根および後根から記録した。

### (結果)

一週齢の Bax 欠損マウスの健常側の L4 運動ニューロンで自然細胞死が野生型に比べて抑制されていた。これらの運動ニューロンは細胞体が小さく、AChE の染色性が低下していた。Bax 欠損マウスでは、野生型マウスとは異なり、坐骨神経軸索切断後の運動ニューロンの消失が認められず、観察された細胞は axotomy-induced cell death を免れたと考えられた。これらの運動ニューロンは、小型の細胞体を持ち AChE の染色性も低下していた。Bax 欠損

マウスでは、坐骨神経切断後も節性の一次求心性線維のL4運動核への投射が形態学的に保たれていた。Bax欠損マウスの神経切断側のL4後根または坐骨神経の電気刺激は、L4前根に単シナプス性応答を誘発した。しかし、頻回刺激に対する応答の易疲労性が認められシナプス伝達機能の低下が示唆された。Bax欠損マウスの神経切断側では感覚線維の伝導速度が有意に低下し、Ia群線維が軸索切断により脱髄等の変性を起こしている可能性が示唆された。

#### (考察)

Bax欠損マウスでみられたAChE染色性の弱い多数の小型脊髄運動ニューロンでは、AChE産生を含む生化学的機能が低下していることが示唆された。個体発生の過程でニューロンは競合的に標的由来因子を獲得しようとする。欠損マウスで過剰な数の運動ニューロンが生じたが、その細胞機能が低下していたことの一つの説明として標的由来の栄養因子の細胞1コあたりの量の減少が考えられる。同様の機能低下はBax欠損マウスで軸索切断後も生存している細胞において更に顕著に観察された。axotomy-induced cell deathを免れた運動ニューロンの観察から、Bax欠損は細胞の生存を可能にするが栄養因子による細胞機能の保持までは補償できなかったと考えられる。また、Baxが欠損した動物では、軸索切断後も伸張反射経路が形態学的・生理学的に保持されたが、運動ニューロン・一次求心性線維の機能不全とシナプス伝達機能の低下がやはりみられた。これはaxotomy-induced cell deathにおけるBaxの重要性を示すと同時に、細胞機能の維持・発達における標的由来因子の必要性を示している。さらに、Bax欠損マウスで生き残った運動ニューロン数の検討から、Baxの関与する経路がaxotomy-induced cell deathでは主要な役割を担うのに対し、自然細胞死には部分的にのみ関与することが強く示唆され、この2種類の細胞死は機序を異にすると考えられる。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

末梢標的由来の因子が脊髄のニューロンや神経回路の発達・分化に重要な役割を果たすことが、近年の研究から示唆されているが、その詳細は未だ不明な点が多い。本研究は、Bax欠損マウスを用い、末梢標的の影響を強く受ける自然細胞死とaxotomy-induced cell deathに着目し、Baxを介する経路への依存性が両者で明らかに異なることを示した。さらに、Bax欠損マウスの特性を利用し、軸索切断後も保持される新生期伸張反射経路の解析により、脊髄運動ニューロンやDRGニューロンの発生・分化および反射路の形態的・機能的成熟における標的由来因子の役割を明らかにした。本研究は、細胞死の機序の解明と標的由来因子の回路発達における役割の理解に大きく貢献するオリジナリティの高い研究である。また、新生時期の神経損傷や運動ニューロン変性疾患の治療へ発展する可能性を持つ研究として大きな意義が認められる。

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。