慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Specific expression of an HNK-1 carbohydrate epitope and NCAM on femoral nerve Schwann cells in mice
Sub Title	マウス大腿神経シュワン細胞におけるHNK-1糖鎖抗原とNCAMの特異的発現
Author	齋藤, 治和
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.1 (2006. 3) ,p.26-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060302-0026

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Specific expression of an HNK-1 carbohydrate epitope and NCAM on femoral nerve Schwann cells in mice

（マウス大腿神経シュワン細胞におけるHNK-1糖鎖抗原とNCAMの特異的発現）

齋藤　治和

内容の要旨

シュワン細胞は末梢神経系におけるグリア細胞である。シュワン細胞には従来より２つのタイプがあることが知られている。一つは髄鞘を形成しているシュワン細胞（myelin-forming Schwann cell：MFSC）であり、もう一つは髄鞘を形成していないシュワン細胞（non-myelin-forming Schwann cell：non-MFSC）である。これらは形態的に差異が明らかで、区別は容易である。1991年、牧らはY字型シリコンチューブを用いた実験で、運動神経片と知覚神経片では軸索誘導能が異なっていることを報告した。これにより、運動神経と知覚神経を構成するシュワン細胞が異なる機能をもった細胞であることが予想された。本研究では、シュワン細胞における様々な細胞接着分子の発現を検索して両者の違いを明らかにし、その他のタイプのシュワン細胞の存在を検索することを目的とした。マウス大腿神経は運動と知覚神経束を含んでおり、これを凍結切片として抗HNK-1抗体、M6749抗体および抗NCAM抗体で免疫組織染色を行った。抗HNK-1抗体、M6749抗体による染色では運動神経束が陽性に染色され、知覚神経束はほとんど染色されなかった。一方、抗NCAM抗体による染色では知覚神経束は陽性であったが、運動神経束はほとんど染色されなかった。運動神経束に認められたHNK-1陽性細胞は、リング状に染色されており、髄鞘を形成しているシュワン細胞に属するものと考えられた。また、知覚神経束に認められたNCAM陽性細胞は、免疫二重染色でS-100陽性、L1陽性であり、知覚無髄線維のシュワン細胞であると考えられた。抗HNK-1抗体とM6749抗体を用いた免疫ブロット解析では、知覚神経束よりも運動神経束の画分で100kDのバンドが強く認められた。抗NCAM抗体では140kDおよび120kDのバンドが知覚神経束に認められ、運動神経束には認められなかった。大腿神経を切断して経時的に観察すると、運動神経束のHNK-1陽性細胞は切断後１週でも認められたが、２週で徐々に減弱し、３週ではほとんど見られなくなった。一方、知覚神経束のNCAM陽性細胞は、切断後３日でほとんど見られなくなった。

成長による変化では、HNK-1陽性細胞およびNCAM陽性細胞はともに生後３週以降に出現していた。これらの結果から、運動神経束と知覚神経束を構成するシュワン細胞は異なる細胞接着分子を発現し、神経の切断や成長に際して異なる変化をすることが判明した。運動と知覚シュワン細胞は末梢神経再生において異なる機能をもち、異なる役割をはたしている可能性がある。さらに、シュワン細胞の分化に関して、従来より知られていたMFSCとnon- MFSCへの分化の次の段階が存在する可能性が考えられた。すなわち、MFSCはHNK-1陽性細胞（motor MFSC）とHNK-1陰性細胞（sensory MFSC）へ分化し、non- MFSCはNCAM陽性細胞（sensory non- MFSC）とNCAM陰性細胞（autonomic non- MFSC）へ分化する可能性である。

近年、広範な末梢神経損傷に対して、シュワン細胞を移植した人工神経を用いて修復する研究が行われるようになってきたが、本研究の成果は人工神経における軸索再生や再髄鞘化の促進への応用が期待される。

論文審査の要旨

末梢神経系のグリア細胞であるシュワン細胞には、従来よりミエリンを形成しているものと形成していないものがあることが知られているが、運動神経と知覚神経を構成するシュワン細胞の違いに関しては明らかでなかった。本研究では、シュワン細胞における様々な細胞接着分子の発現を検索して両者の違いを明らかにすることを目的とした。運動と知覚神経束を含むマウス大腿神経を凍結切片として抗HNK-1抗体、M6749抗体および抗NCAM抗体で免疫組織染色を行った。さらに、運動枝と知覚枝から膜画分を取り出して、ウェスタンブロット解析を行った。その結果、運動神経束にはHNK-1陽性細胞が存在し、その染色性から運動有髄線維のシュワン細胞と考えられた。また、知覚神経束にはNCAM陽性細胞が偏在し、免疫二重染色でS-100陽性、L1陽性であることから、知覚無髄線維のシュワン細胞と考えられた。さらに、大腿神経を切断して経時的に観察すると、運動神経束のHNK-1陽性細胞は３週で、知覚神経束のNCAM陽性細胞は切断後３日でほとんど見られなくなった。成長過程では、HNK-1陽性細胞およびNCAM陽性細胞はともに生後３週以降に出現していた。これらから、運動神経と知覚神経を構成するシュワン細胞は神経の切断や再生に際して異なる変化をすることが判明した。

審査では、まず、切断後の軸索再生過程に関する質問がなされた。近位断端からの液性因子による誘導とともに、遠位断端からシュワン細胞が遊走し、再生軸索が誘導されることも考えられると回答された。次に、臨床において運動機能と知覚機能の回復に差がみられることについて質問がなされ、実際の臨床上は、神経が障害された部位によっても回復が異なることや、切断以外の病態も存在し、知覚神経片により強い軸索誘導能が存在したとしても、運動機能の回復の方が良好な場合もあると回答された。さらに、知覚神経細胞はDRGに由来する細胞であり、運動神経細胞は脊髄前角に由来する細胞であることから、両者の染色性の違いについて質問がなされたが、今回の研究では軸索の染色性については違いは見られなかったと回答された。またHNK-1糖鎖抗原の由来について質問がなされ、軸索を通じて輸送されてくるのか、軸索との接触によりシュワン細胞に糖鎖抗原を形成する酵素が発現するのかは不明であると回答された。NCAMの発現が生下時には運動枝、知覚枝ともに陽性であり、その後染色されなくなることについて質問がなされたが、生下時には未熟なシュワン細胞が残存しているためと考えられると回答された。最後に、今後の臨床応用について質問がなされ、NCAM陽性シュワン細胞が軸索誘導に有利に働くとすれば、将来開発される人工神経にも応用可能であろうと回答された。

以上のように、本研究は未だ検討されるべき点を残しているものの、運動および知覚神経を構成しているシュワン細胞が異なる糖鎖抗原および蛋白質を発現していることを明らかにした点で有意義であると評価された。

論文審査担当者　主査　整形外科学　戸山　芳昭
解剖学　仲嶋　一範　　生理学　岡野　栄之
内科学　鈴木　則宏
学力確認担当者：池田　康夫、仲嶋　一範
審査委員長：仲嶋　一範

試問日：平成18年 1月25日