

原 著

脊髄半切ラットにおける半切側下肢の過用が脊髄交叉性セロトニン線維の増加におよぼす影響*

中野 治郎¹⁾ 山田 崇史¹⁾ 永野 克人¹⁾ 堤 恵 理子¹⁾
高木 昭輝¹⁾ 梶 原 博 毅¹⁾ 沖 田 実²⁾

要旨

先行研究によれば、ラットの胸髄が半切されると腰髄レベルでは脊髄交叉性にセロトニン線維が増加し、この影響により歩行運動機能の回復が促進されると考えられている。本研究の目的は、脊髄交叉性のセロトニン線維の増加が半切側下肢を過用させることで影響されるかどうかを免疫組織化学的に検討することである。実験動物は6週齢のウィスター系雄ラットで、胸髄右側を半切した31匹のうち18匹はそのまま回復させ、13匹は半切側下肢を過用させる目的で対側坐骨神経を切断した。結果、半切側の腰髄前角に分布するセロトニン線維は、半切1週後は著明に減少したが、2, 3週後には増加・再分布が認められ、これは半切側下肢を過用させた場合が著しかった。したがって、脊髄交叉性のセロトニン線維の増加は、半切側下肢の過用によって促進されると推察される。

キーワード 胸髄半切, セロトニン線維, 過用

はじめに

小動物では、胸髄の半分が切断されても歩行能力を失うことはなく、これは、脊髄交叉経路によって半切側下肢の運動機能が代償されることが要因である。近年、この代償機序において、セロトニン (5-hydroxytryptamine; 以下, 5-HT) 線維の関与が報告されている¹⁻³⁾。5-HT 線維とは、モノアミン神経伝達物質の一つである5-HTを軸索輸送、投射する神経線維であり、脊髄においては、歩行運動パターンを調節する回路⁴⁾⁵⁾ (Central Pattern Generator; 以下, CPG) の運動神経細胞を活性化する働きがある⁶⁾⁷⁾。また、5-HT 線維は無髄神経であり、発芽能力を持ち⁸⁾、胸髄が半切されると腰髄レベルでは脊髄交叉性に5-HT 線維が発芽、増加することが報告されている (図1)¹⁾²⁾。したがって、胸髄半切

動物の半切側におけるCPGは、半切後に生じる脊髄交叉性の5-HT 線維の影響によって再活性化されると考えられる。さらに、Lovelyら⁹⁾やBarbeauら¹⁰⁾は、胸髄半切したネコにトレッドミル走行を負荷すると歩行運動パターンが正常化することを報告している。したがって、胸髄半切動物に対して運動を負荷するとCPGの再調節が促進され、これは5-HT 線維の影響によるものと推察されるが、これまでの先行研究においてこの点を明らかにした報告はない。そこで本研究では、胸髄半切ラットの対側下肢骨格筋を脱神経することで半切側下肢を過用させ、5-HT 線維におよぼす影響を免疫組織化学的に検討した。

対象と方法

1. 対象

実験動物には6週齢のウィスター系雄ラット44匹 (体重: 155-200 g) を用い、そのうち31匹はネンブター麻酔下 (0.5 mg / 10 g) で胸椎部の皮膚を開切、胸髄を露出し、T8レベルの胸髄右側半分を鋭利な刃で切断した。そして、この実験処置を施したラットのうち18匹はそのまま回復させ (Hemisection; 以下, H群)、残りの13匹は半切側 (右側) 下肢を過用させる目的で、左側坐骨神経を約1 cmに渡って切断し、下肢骨格筋を麻痺させた (Hemisection + Denervation; 以下, HD

* Muscular Overuse Augments Spinal Cord Cross-over Serotonergic Fibers during Recovery from Thoracic Spinal Cord Hemisection in Rats

1) 広島大学医学部保健学科病態解析学教室
(〒734-8551 広島県広島市南区霞1-2-3)

Jiro Nakano, RPT, Takashi Yamada, RPT, Katsuto Nagano, RPT, Eriko Tsutsumi, RPT, Akiteru Takagi, RPT, PhD, Hiroki Kajihara, MD, PhD: Department of Pathology, Institute of Health Science, Faculty of Medicine, Hiroshima University

2) 長崎大学医療技術短期大学部理学療法学科

Minoru Okita, RPT: Department of Physical Therapy, School of Allied Medical Science, Nagasaki University
(受付日 2000年6月7日/受理日 2000年11月20日)

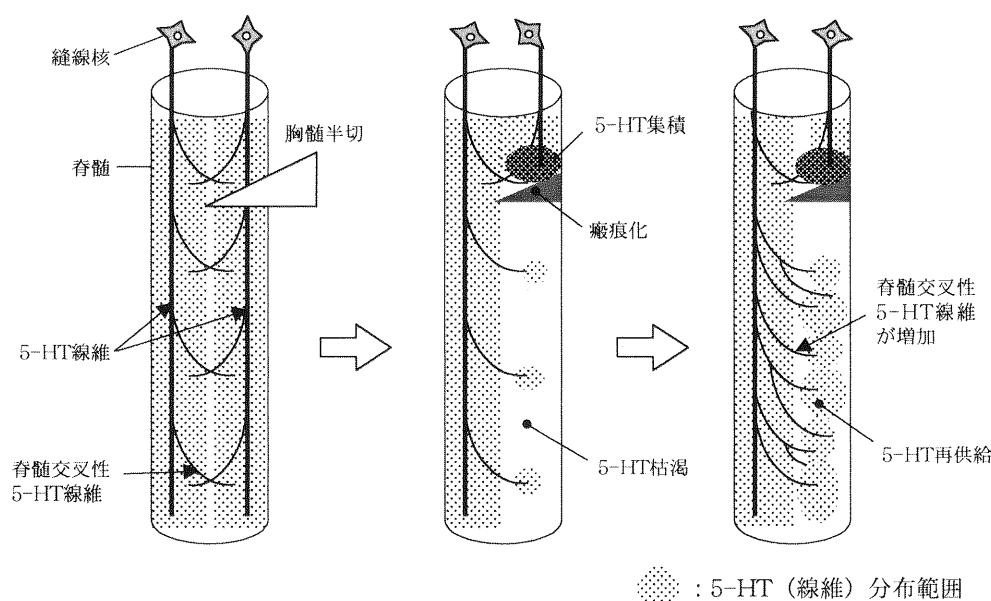


図1 胸髄半切による脊髓交叉性の5-HT線維の変化

5-HTは延髄の縫線核で産生され、外側下行路から脊髓灰白質へ軸索輸送・投射される。正常の脊髓では、すべてのレベルに5-HT線維が分布し、その一部は脊髓交叉性である。胸髄が半切されると、半切レベルより下位の半切側灰白質へ到達する5-HT線維が減少し、5-HTは枯渇する。その後、脊髓交叉性5-HT線維が増加することにより、5-HTが再供給される¹⁾²⁾。

群)。また、上記の実験処置を施していない13匹のうち、3匹には左側坐骨神経切断を施し（Denervation；以下、D群）、残りの10匹は無処置とした（Control；以下、C群）。なお、今回の実験は広島大学医学部における倫理委員会の承認を得て行なった。

2. 回復期間

諸家¹⁾²⁾¹¹⁻¹³⁾によると、胸髄半切ラットの歩行運動機能の回復は約3週間でプラトーとなると報告している。そこで、H群およびHD群の回復期間を1週（H群：n=6、HD群：n=4）、2週（H群：n=5、HD群：n=4）、3週（H群：n=7、HD群：n=5）とした。また、C群はH群、HD群と週齢を合わせて屠殺し（7週齢：n=3、8週齢：n=3、9週齢：n=4）、D群の回復期間は3週のみとした。さらに、回復期間中は4項目で構成されるLittleら¹¹⁾の歩行運動機能スケールを一部改良したもの（12点満点）で両下肢を評価した（表1）。なお、評価は、同一検者が隔日に行った。

3. 試料作製および検索方法

回復期間が終了したラットは、ネブタール麻酔下で生理食塩水（pH 7.4）および4%パラホルムアルデヒド燐酸緩衝液（pH 7.4）で灌流固定した。そして胸髄（T8）と腰髄（L1）を摘出し、4%パラホルムアルデヒド燐酸緩衝液（pH 7.4）および15%、20%サッカロース加燐酸緩衝液（pH 7.4）に24時間ずつ浸漬した後、凍結包埋した。また胸髄組織の一部は、摘出後10%ホルマリンで再固定し、脱水後、パラフィンに包埋した。

胸髄組織は、クリオスタットまたはマイクロームを用いて横断、縦断に薄切（10 μm厚）した。そして、病理組織学的観察のためにヘマトキシリン・エオジン（以下、HE）染色を、髄鞘の染色・観察のためにルクソール・ファスト青染色を、軸索の染色・観察のためにボディアン染色を施し、光学顕微鏡で検鏡した。また、これらの染色で得られた所見から胸髄半切部が再接続していないこと、ならびに胸髄半切範囲が適切であることを確認した。

腰髄組織については横断切片（10 μm厚）を作成し、5-HTに対する免疫染色を行った。一次抗体には5-HT抗体（Polyclonal Rabbit Anti-Serotonin；Biomeda社製）を0.01 M燐酸緩衝液（pH 7.4）で1000倍に希釈して使用し、室温で1時間反応させた後、ABC法に従って発色した。そして、同染色によって可視化される神経線維を5-HT線維と同定した¹⁾²⁾¹⁴⁾。

さらに、3週間の回復期間を終えたラットから、灌流固定直前に両側ヒラメ筋を摘出、直ちに凍結包埋し、その横断切片（8 μm厚）をHE染色およびアデノシン三リン酸分解酵素（ATPase）染色（pH 10.4）した。そして、歩行や姿勢保持のような低強度運動でも常に動員するヒラメ筋¹⁵⁾を指標に、回復期間中にHD群の半切側（右側）下肢が過用しているかどうかを判定した。

4. 解析方法

脊髓交叉性の5-HT線維の変化を検索するため、両側腰髄前角に分布する5-HT線維を定量化した。すなわち、左右それぞれの腰髄前角の画像（50倍）をコンピュー

表 1 歩行運動機能スケール

項目	得点	判定内容
足のもがき※	0	反応なし
	1	正常の1-50%
	2	正常の50-90%
	3	正常の90-100%
遊脚期	0	屈曲 (-)
	1	正常の1-50% (完全に前方まで振り出せない)
	2	正常の50-90% (床をこすりながら前方まで振り出す)
	3	正常の90-100% (十分な遊脚期が認められる)
立脚中期	0	ひきずり状態
	1	正常の1-50% (足部が外側に廻り、体重支持をしていない)
	2	正常の50-90% (体重支持は見られるが、臀部が十分に浮かない)
	3	正常の90-100% (十分な体重支持が認められる)
立脚後期	0	伸展 (-)
	1	正常の1-50% (ある程度の足・膝関節の伸展が認められる)
	2	正常の50-90% (足関節が完全に伸展するが後方に抜ける)
	3	正常の90-100% (十分な蹴りが認められる)
合計12点		

本研究で用いた歩行運動機能スケールは、Littleら¹¹⁾のスケールを一部改良したものである。

※；ラットの足部を把握すると、ラットはもがき、足を引き込む。その時の足の力を評価した。

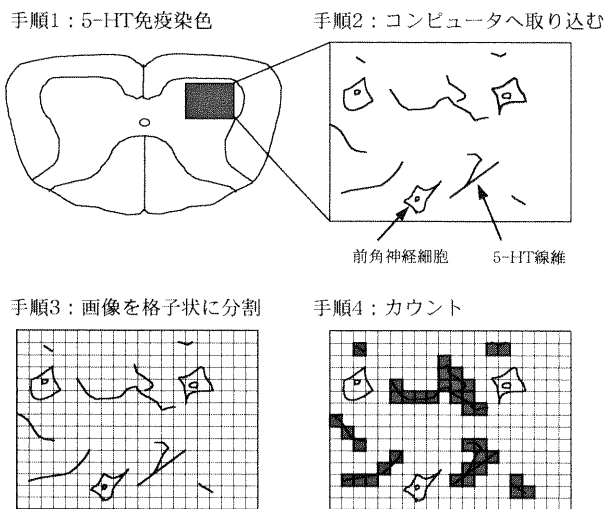


図 2 腰髄前角に分布する 5-HT 線維の解析方法

- 手順 1：腰髄横断切片を 5-HT 免疫染色すると、5-HT を軸索輸送する神経線維（5-HT 線維）が可視化される。
 手順 2：腰髄前角の画像をコンピューターに取り込む（50 倍）。
 手順 3：画像処理ソフトを利用して画像を格子状に 300 分割する（1 区画 30 μ m \times 30 μ m）。
 手順 4：5-HT 線維を含む格子の総数をカウントする。C 群全てのラットから得られた値の平均値を基準に H 群、HD 群、D 群それぞれの百分率を算出した。

ターに取り込み、その画像を格子状に 300 分割（1 区画 30 μ m \times 30 μ m）し、5-HT 線維が含まれる格子の総数をカウントした（図 2）。C 群全てのラットから得られた値の平均値を基準に H 群、HD 群、D 群それぞれを 100 分率で算出した。また、胸髄半切範囲や染色時の影響を考慮し、同切片の右側で得られるデータを左側のそれで除し、対側比率を算出した。なお、解析には 1 匹の

ラット当たり 3 枚の切片を用いた。

ヒラメ筋に関しては、ATPase 染色像から 1 筋当たり 300 本以上の筋線維をタイプ I・II 線維に分別し、それぞれの筋線維短径を計測した。

統計学的処理としては分散分析を行い、有意差を認めた場合には Scheffe 法に準じて 2 群間の検定を行った。なお、有意水準は 5%未満とした。

結 果

1. 胸髄の組織学的所見と損傷範囲

HE 染色（図 3-A）および髄鞘染色（図 3-B）した連続横断または縦断切片を検鏡した結果、胸髄右半分と左腹側の一部に組織の変性、消化、空胞形成が認められた。また、5-HT 線維は主に脊髄側索を下行する¹⁶⁾ため、今回の胸髄半切モデルの条件を右側索と右腹側索が損傷し、かつ左側索が残存しているものとした。その結果、H 群のうち 2 匹は、この条件にあてはまらなかったのが対象から除外した。

損傷範囲の大きさに関しては、H 群と HD 群に差はなく、軸索染色（図 3-C）の結果でも、H 群、HD 群すべて切断された軸索の再接続は認められなかった。

2. 歩行運動機能の変化

歩行運動機能スケールの変化をみると、H 群の半切対側（左側）は実験処置直後に 1～3 点まで低下したが、その後 2 週間以内に 9～11 点まで回復した（図 4-A）。同様に半切側（右側）も徐々に回復し、1 週間には 5～7 点、3 週間には 8～10 点となった（図 4-B）。HD 群の

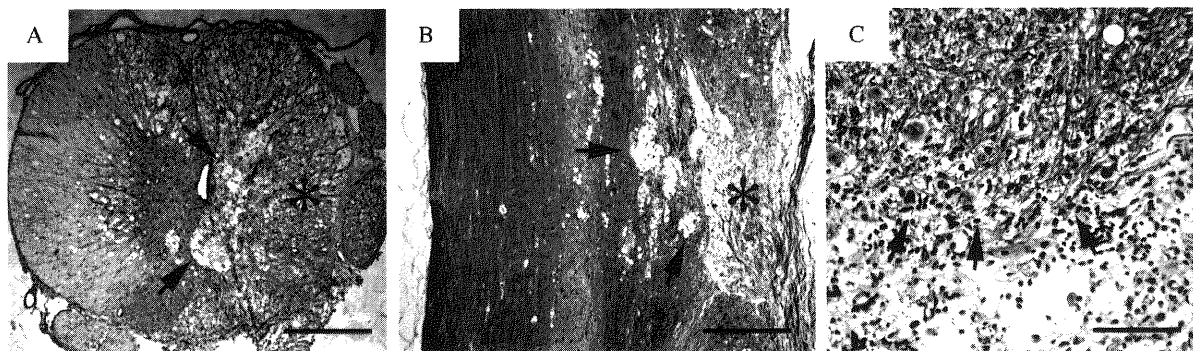


図3 胸髄組織の組織学的染色結果

A: HE染色の横断像(H群の半切2週後):半切による損傷部は、右側と左腹側索の一部であった。写真の右が半切側(右側)となる。星印;切断による変性・消化。矢印;空胞形成。Bar=500 μ m.

B: ルクソール・ファスト青染色(髄鞘染色)の縦断断像(H群の半切3週後):写真左から左側索-左側後角-背側索-右側後角-右側索となる。右側索および背側索右側には髄鞘の変性・消失が認められる。星印;切断による変性・消化。矢印;空胞形成。Bar=500 μ m.

C: ボディアン染色(軸索染色)の縦断断像(H群の半切3週後):損傷部(写真下)と残存部(写真上)の境界では、軸索の再生・回復は認められなかった。矢印;切断された神経軸索の末端。Bar=100 μ m.

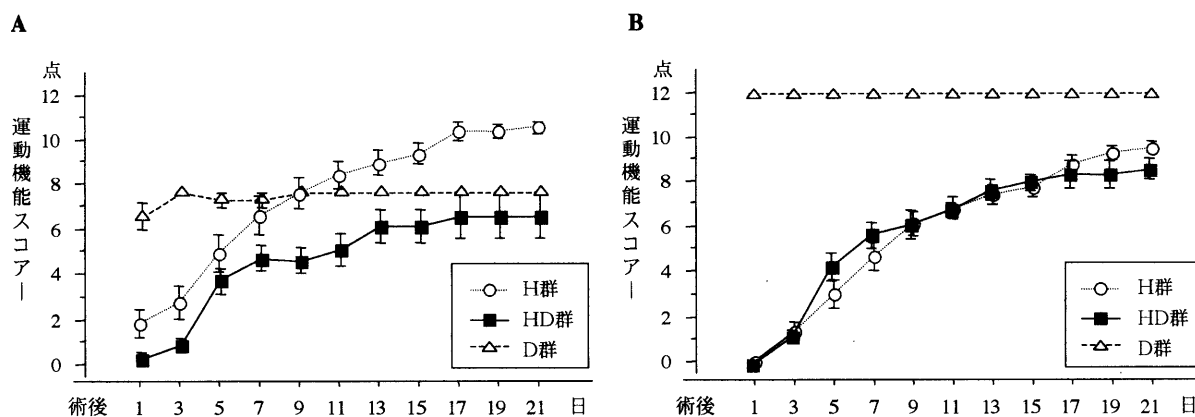


図4 歩行運動機能スケールの変化

A: 半切対側(左側)の歩行運動機能スコア。B: 半切側(右側)の歩行運動機能スコア。平均±標準誤差。

表2 ヒラメ筋の平均筋線維直径

実験条件	筋線維直径 (μ m)			
	半切対側(左側)		半切側(右側)	
	タイプI	タイプII	タイプI	タイプII
C群	39.8±6.8	34.0±7.1	—	—
H群	40.9±6.7	34.0±7.6	42.8±8.0 ^a	32.4±8.5
HD群	17.2±4.7 ^{a, b}	13.1±4.8 ^{a, b}	47.8±9.4 ^{a, b}	32.5±10.0
D群	17.0±4.3 ^{a, b}	12.7±4.5 ^{a, b}	44.9±8.5 ^a	35.3±9.1

a; C群との比較 ($p<0.001$). b; H群との比較 ($p<0.001$). 平均±標準偏差。

半切対側(左側)の回復は、6～8点まで達するのにH群より倍の期間を要し(図4-A), それ以降は回復せずプラトーとなったが、半切側(右側)はH群と同様の期間で回復した(図4-B)。また、D群の左側は坐骨神経切断のため8点まで低下し、改善しなかった。

3. ヒラメ筋の筋線維直径

HD群およびD群の左側ヒラメ筋は、タイプI・II線維ともその平均筋線維直径はC群およびH群のそれより有意に小さかった。一方、HD群およびD群の右側ヒラメ筋は、タイプI線維の平均筋線維直径がC群およびH群のそれより有意に大きかった(表2)。

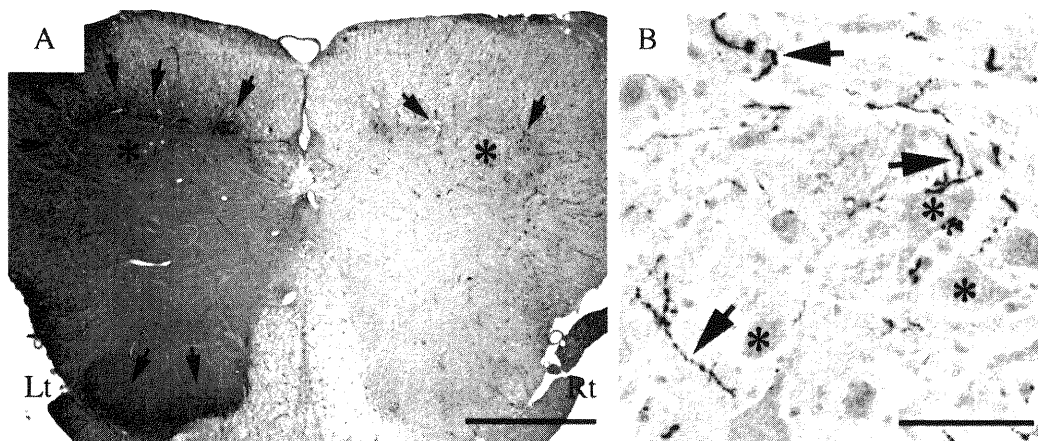


図5 腰髄組織の5-HT免疫染色像

A：腰髄組織5-HT免疫染色結果（H群の半切2週後）：腰髄前角および後角に陽性反応（矢印）が認められた。半切側前角の陽性反応は、半切対側のそれよりも粗であった。星印；腰髄前角。Lt；半切対側（左側）。Rt；半切側（右側）。Bar=500 μ m。
B：半切側（右側）の腰髄前角を拡大したもの：高倍率で観察すると、点状または数珠状に陽性線維（矢印）が認められた。この陽性線維を5-HT線維と同定した¹⁾²⁾¹⁴⁾。星印；前角神経細胞。Bar=100 μ m。

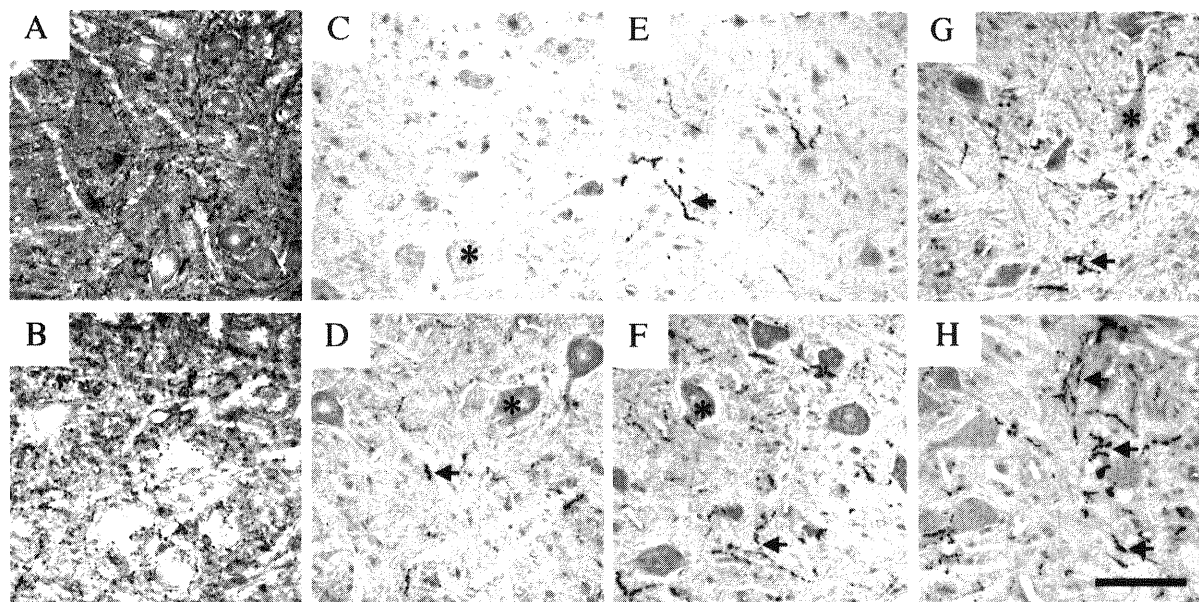


図6 半切側の腰髄前角に分布する5-HT線維の経時的変化

C群では、腰髄前角に分布する5-HT線維の経時的な変化は認められなかった（A）。D群の腰髄前角に分布する5-HT線維はC群と変わらなかった（B）。H群およびHD群は、半切1週後に半切側の腰髄前角に分布する5-HT線維が著明に減少した（C：H群の半切1週後，D：HD群の半切1週後）が，2，3週後には増加した（E，G：H群の半切2，3週後，F，H：HD群の半切2，3週後）。また，その程度はH群に比べてHD群の方が著しかった。矢印；5-HT線維。星印；前角神経細胞。Bar=100 μ m。

4. 腰髄前角に分布する5-HT線維の変化

5-HT抗体を用いた免疫染色の結果，腰髄前角（Rexed第Ⅶ～Ⅸ層）および後角（Rexed第Ⅰ～Ⅳ層）に陽性反応が認められ（図5-A），高倍率で検鏡すると，陽性反応はすべて5-HT線維であることが確認された（図5-B）。そこで，今回は腰髄前角に分布する5-HT線維のみを検索対象とした。

C群では腰髄前角のほぼ全域にわたって網状に分布しており（図6-A），D群も同様な分布であった（図6-B）。一方，H群およびHD群の半切側（右側）では，1週後に著明に減少したが（図6-C，D），2，3週後には増

加・再分布が認められた（図6-E，F，G，H）。

次に，両側腰髄前角に分布する5-HT線維を前記した方法（図2）で定量化した結果，H群，HD群の半切側（右側）は，1週後でそれぞれ $15.5 \pm 10.2\%$ ， $25.7 \pm 4.7\%$ とC群に比べ著明に減少していた。しかし，2週後ではH群が $22.1 \pm 6.4\%$ ，HD群が $43.1 \pm 5.7\%$ ，3週後ではH群が $27.8 \pm 7.5\%$ ，HD群が $41.7 \pm 4.8\%$ と1週後に比べ増加しており（図7-B），さらに，H群よりもHD群が有意に高値を示した。また，対側比率の結果でも同様な傾向にあり，2，3週後においてはH群よりもHD群が有意に高値を示した（図7-C）。H群，HD群の

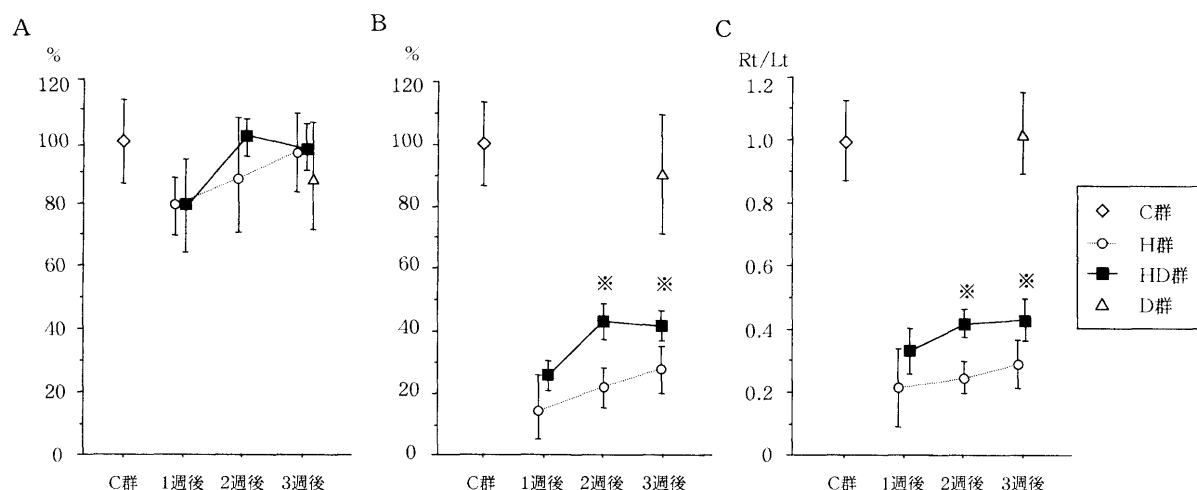


図7 腰髄前角に分布する5-HT線維の解析結果

A: 半切対側(左側)腰髄前角に分布する5-HT線維の解析結果。

B: 半切側(右側)腰髄前角に分布する5-HT線維の解析結果。

C: 対側比率(半切側のデータ/半切対側のデータ; Rt/Lt)。

AおよびBの縦軸はC群で得られたデータの平均を基準とした百分率を表す。1週後; H群, HD群の半切1週後, 2週後; H群, HD群の半切2週後, 3週後; H群, HD群の半切3週後およびD群。*: H群とHD群の比較 ($p < 0.001$)。平均±標準偏差。

半切対側(左側)については, 1週後にC群より軽度減少していたが, 2, 3週後ではC群と有意差はなかった(図7-A)。また, D群においては両側ともC群と有意差はなかった(図7-A, B)。

考 察

は哺乳類の中樞神経の軸索は, 少なからず再生能力を持つといわれている⁷⁾, 成熟ラットの場合, 移植などの特別な処置を施さない限り, 軸索の再接続は不可能である¹⁷⁾¹⁸⁾。そして, 今回の結果でもH群, HD群のすべてのラットで半切側の軸索の再接続は認められなかった。しかし, H群, HD群の半切側下肢は半切後3日目から随意運動が可能となり, 約3週間で劇的に回復し, この結果は諸家¹⁾²⁾¹¹⁻¹³⁾の報告と同様であった。したがって, 半切側下肢の運動機能は, 残存した脊髄交叉経路によって補われたと考えられ, 具体的な代償機序としては, 脊髄交叉性経路の機能的接続の強化¹⁹⁾, silent synapsesの機能的作動²⁰⁾, 5-HT線維などによる新たな側枝発芽¹⁹⁾²¹⁾²²⁾などがあげられる。

脊髄に分布する5-HT線維のすべては, 延髄の縫線核に起源するため¹⁶⁾²³⁾, 胸髄を半切すると同側の5-HT線維も同時に切断される。今回の結果においてもH群, HD群の半切側腰髄前角に分布する5-HT線維が半切1週後に著明に減少しており, これは上記の影響によるものである。また, 5-HT線維が完全に消失しなかったことは, 脊髄交叉性の5-HT線維の存在を示唆している²³⁾。一方, 半切2, 3週後では半切側腰髄前角に分布する5-HT線維が増加, 再分布した。この結果は, Saruhashiら¹⁾²⁾によれば, 対側5-HT線維の側枝発芽, すなわち

脊髄交叉性の5-HT線維の増加に基づいているとしている(図1)。また, Feraboli-Lohnherrら⁶⁾やSlawinskaら⁷⁾は, 脊髄損傷動物の脊髄灰白質に5-HTを再供給すると, CPGが活性化され, 歩行パターンが改善すると報告している。逆に胸髄半切ラットに5-HTレセプター拮抗物質を注入すると, 歩行運動機能の回復が制限されたとの報告もある²⁾。このように, 胸髄半切ラットの歩行運動機能の回復に脊髄交叉性の5-HT線維が関与していることは明らかである¹⁻³⁾⁶⁾⁷⁾。さらに, 諸家の報告⁹⁾¹⁰⁾に基づけば, 胸髄半切動物に対して運動を負荷するとCPGの再調節が促進され, これは5-HT線維が影響していると推察される。そして, 本研究ではこの点を明らかにする目的で, 胸髄半切後に生じる脊髄交叉性の5-HT線維の増加が半切側下肢を過用させることで影響されるかどうかを検討した。

今回の結果から, HD群の半切側(右側)ヒラメ筋は, タイプI線維の平均筋線維直径がH群およびC群より有意に大きく, 過用による代償性の筋線維肥大が認められた。そして, 半切2, 3週後とも半切側腰髄前角に分布する5-HT線維は, HD群がH群よりも有意に多かった。Wangら²⁴⁾やPolistinaら²⁵⁾によれば末梢神経が損傷されても脊髄前角に分布する5-HT線維には何ら影響をおよぼさないと報告しており, 今回の結果でも, 半切側の対側に当たる左側腰髄前角に分布する5-HT線維は, C群とD群, ならびにHD群とH群でも有意差は認められなかった。したがって, HD群における脊髄交叉性の5-HT線維の増加は, 坐骨神経切断によって影響された可能性は低いといえよう。さらに, 5-HTは血液脳関門を通過できないため, 脊髄組織内の5-HTは血中

5-HT 量に影響を受けていないと考えられる²²⁾。すなわち、HD 群における脊髄交叉性の 5-HT 線維の増加は、半切側下肢の過用によって助長されたと推測でき、この影響により CPG が賦活すると考えられる。しかしながら、歩行運動機能スケール評価では、HD 群と H 群の間に有意差はなく、半切側下肢の過用による歩行運動機能の回復促進は確認できなかった。今回使用したスケールは、ラットの歩行状態を評価するもので、一側下肢を評価する場合、対側下肢の機能が少なからず影響する。つまり、HD 群の半切対側（左側）下肢は脱神経によって骨格筋麻痺が生じており、これが影響し半切側下肢が本来の機能よりも低く評価された可能性もあるため、今後は歩行運動機能の指標を再検討することも必要と考える。また、今回の結果はトレッドミル走行など具体的な運動を負荷した影響ではないため今後はこの点についても検討を加え、さらに、脊髄交叉性の 5-HT 線維が増加するメカニズムや CPG 活性化作用を持つ 5-HT 線維以外の因子⁶⁾についても検討していきたい。

文 献

- 1) Saruhashi Y, Young W, *et al.*: The recovery of 5-HT immunoreactivity in lumbosacral spinal cord and locomotor function after thoracic hemisection. *Exp Neurol* 139(2): 203-213, 1996.
- 2) Saruhashi Y, Young W: Effect of mianserin on locomotor function after thoracic spinal cord hemisection in rats. *Exp Neurol* 129(2): 207-216, 1994.
- 3) Hashimoto T, Fukuda N: Contribution of serotonin neurons to the functional recovery after spinal cord injury in rats. *Brain Res* 539(2): 263-270, 1991.
- 4) Deliagina TG, Orlovsky GN, *et al.*: The capacity for generation of rhythmic oscillations is distributed in the lumbosacral spinal cord of the cat. *Exp Brain Res* 53(1): 81-90, 1983.
- 5) Golubitsky M, Stewart I, *et al.*: Symmetry in locomotor central pattern generators and animal gaits. *Nature* 401(6754): 693-695, 1999.
- 6) Feraboli-Lohnherr D, Orsal D, *et al.*: Recovery of locomotor activity in the adult chronic spinal rat after sublesional transplantation of embryonic nervous cells: specific role of serotonergic neurons. *Exp Brain Res* 113(3): 443-454, 1997.
- 7) Slawinska U, Majczynski H, *et al.*: Recovery of hindlimb motor functions after spinal cord transection is enhanced by grafts of the embryonic raphe nuclei. *Exp Brain Res* 132(1): 27-38, 2000.
- 8) 川口三郎：軸索再生による中枢伝導路の再構築。脳神経 38(5): 457-468, 1986.
- 9) Lovely RG, Gregor RJ, *et al.*: Effects of training on the recovery of full-weight-bearing stepping in the adult spinal cat. *Exp Neurol* 92(2): 421-435, 1986.
- 10) Barbeau H, Rossignol S: Recovery of locomotion after chronic spinalization in the adult cat. *Brain Res* 412(1): 84-95, 1987.
- 11) Little JW, Harris RM, *et al.*: Locomotor recovery following subtotal spinal cord lesions in a rat model. *Neurosci Lett* 87(1-2): 189-194, 1988.
- 12) Harris RM, Little JW, *et al.*: Spared descending pathways mediate locomotor recovery after subtotal spinal cord injury. *Neurosci Lett* 180(1): 37-40, 1994.
- 13) Little JW, Harris RM, *et al.*: Immobilization impairs recovery after spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil* 72(6): 408-412, 1991.
- 14) Bowker RM, Steinbusch HWM, *et al.*: Serotonergic and peptidergic projections to the spinal cord demonstrated by a combined retrograde HRP histochemical and immunocytochemical staining method. *Brain Res* 211(2): 412-417, 1981.
- 15) Hennig R, Lomo T: Firing patterns of motor units in normal rats. *Nature* 314(6007): 164-166, 1985.
- 16) 高垣玄吉郎, 永津俊治：神経伝達物質アミノ酸とアミン, 講談社, 東京, 1981, pp157-176.
- 17) Reier PJ, Bregman BS, *et al.*: Intraspinal transplantation of embryonic spinal cord tissue in neonatal and adult rats. *J Comp Neurol* 247(3): 275-296, 1986.
- 18) Iwashita Y, Kawaguchi S, *et al.*: Restoration of function by replacement of spinal cord segments in the rat. *Nature* 367(6459): 167-170, 1994.
- 19) 今井富祐：実験的脊髄損傷後のラット後肢運動機能回復の神経機序。札幌医学雑誌 62: 99-111, 1993.
- 20) Zhang Z, Guth L, *et al.*: Mechanisms of motor recovery after subtotal spinal cord injury: insights from the study of mice carrying a mutation (Wld^S) that delays cellular responses to injury. *Exp Neurol* 149(1): 221-229, 1998.
- 21) Aoki M, Fujita Y, *et al.*: The possible role of collateral sprouting in the functional restitution of corticospinal connections after spinal hemisection. *Neurosci Res* 3(6): 617-627, 1986.
- 22) Ptri V, Michaela T, *et al.*: Increased lesion-induced sprouting of corticospinal fibres in the myelin-free rat spinal cord. *European J Neurosci* 10(1): 45-56, 1998.
- 23) Allen GV, Cechetto DF: Serotonergic and nonserotonergic neurons in the medullary raphe system have axon collateral projections to autonomic and somatic cell groups in the medulla and spinal cord. *J Comp Neurol* 350(3): 357-366, 1994.
- 24) Wang S, Goldberger ME, *et al.*: Plasticity of spinal system after unilateral lumbosacral dorsal rhizotomy in the adult rat. *J Comp Neurol* 304(4): 555-568, 1991.
- 25) Polistina DC, Murray M, *et al.*: Plasticity of dorsal root and descending serotonergic projections after partial deafferentation of the adult rat spinal cord. *J Comp Neurol* 299(3): 349-363, 1990.

〈Abstract〉

Muscular Overuse Augments Spinal Cord Cross-over Serotonergic Fibers during Recovery from Thoracic Spinal Cord Hemisection in Rats

Jiro NAKANO, RPT, Takashi YAMADA, RPT, Katsuto NAGANO, RPT, Eriko TSUTSUMI, RPT, Akiteru TAKAGI, RPT, PhD, Hiroki KAJIHARA, MD, PhD

Department of Pathology, Institute of Health Science, Faculty of Medicine, Hiroshima University

Minoru OKITA, RPT

Department of Physical Therapy, School of Allied Medical Science, Nagasaki University

Spinal cord cross-over serotonergic fibers increase when the thoracic spinal cord of a rat is hemisected and the recovery of locomotion is stimulated. The purpose of this study was to examine whether muscular overuse affects this increase in spinal cord cross-over serotonergic fibers. Forty-four Wister male rats (6 weeks old) were divided into a control group (n=13) and an experimental group (n=31). All rats of the experimental group underwent right thoracic spinal cord hemisection (T8), and 18 of them were recovered with no other procedures. The other 13 rats in the experimental group were further underwent denervation of the contralateral left sciatic nerve to bring about a compensatory overuse on the ipsilateral right hindlimb. The rats were then sacrificed every week for 3 weeks after thoracic spinal cord hemisection. Distribution of the spinal cord cross-over serotonergic fibers in the lumbosacral ventral horn was examined by immunohistochemical methods, and found to be more prevalent in the hemisected with the denervation of contralateral sciatic nerve than in the other hemisected rats. The results of this experiment suggest that the increase of the spinal cord cross-over serotonergic fibers following thoracic spinal cord hemisection may be encouraged by overuse of the hindlimb.