

琉球大学学術リポジトリ

マウス脊髄前角におけるミクログリアの活性化とKC
C2 の発現低下を介した緩い坐
骨神経結紮後の神経変性及び再生の緩徐な進行

メタデータ	言語: en 出版者: 琉球大学 公開日: 2022-08-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 屋富祖, 司 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002019518

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Slow progression of sciatic nerve degeneration and regeneration after loose ligation through microglial activation and decreased KCC2 levels in the mouse spinal cord ventral horn

(マウス脊髄前角におけるミクログリアの活性化と KCC2 の発現低下を介した緩い坐骨神経結紮後の神経変性及び再生の緩徐な進行)

氏 名 屋富祖 司 _____

結 言 : 末梢神経損傷は、感覚系、運動系両方に障害を与える。しかし、末梢神経損傷により引き起こされる運動機能の低下と神経組織の病理変化及び様々なマーカー分子発現の経時的変化との関連については不明な点が多い。我々は、これまでに下記について、報告した。

① 舌下、顔面神経切断後、アセチルコリン合成の低下、抑制性伝達物質である GABA の作用が興奮性に変化し、神経再生後これらの変化が回復すること（立津ら 2012、Kim ら 2018）。② 脛骨神経障害後の疼痛発症に、ミクログリアの活性化とそれに伴う GABA の機能変化が関与すること（小坂ら 2020）。さらに、椎間板ヘルニア、脊柱管狭窄症など神経絞扼性疾患のモデル動物を用いた運動機能に関する研究は皆無である。そこで、坐骨神経を緩く結紮（絞扼）した神経損傷モデルマウスを作製し、下肢運動機能、坐骨神経組織及びマーカー分子発現の経時的変化を解析し、以上の時間的相関関係を明らかにすることを本研究の目的とした。

方	法	:	10	~	12	週	齡	の	雄	マ	ウ	ス	(C57BL/6J)	を	用	い	て			
坐	骨	神	經	徑	を	半	分	に	す	る	結	紮	モ	デ	ル	マ	ウ	ス	を	
作	製	し	、	以	下	の	点	を	解	析	し	た	。	①	下	肢	運	動	機	
能	は	Sciatic	Functional	Index	(SFI)	を	測	定	し	た	。	②	坐	骨	神	經				
の	組	織	変	化	は	走	査	型	電	子	顕	微	鏡	に	て	観	察	し	た	。
③	坐	骨	神	經	が	入	力	す	る	第	5-6	腰	髓	前	角	に	お	け	る	
マ	ー	カ	ー	分	子	の	発	現	は	、	免	疫	染	色	法	と	ImageJ	を		
組	み	合	わ	せ	て	客	観	的	に	評	価	し	た	。	マ	ー	カ	ー	分	
子	と	し	て	、	ミ	ク	ロ	グ	リ	ア	に	発	現	す	る	Iba1	、	神	經	
ペ	プ	チ	ド	の	一	種	で	あ	る	ガ	ラ	ニ	ン	、	ア	セ	チ	ル	コ	
リ	ン	の	合	成	酵	素	Choline	Acetyl	Transferase	(ChAT)	、	細	胞	内	Cl ⁻					
濃	度	を	低	下	さ	せ	GABA	や	グ	リ	シ	ン	の	作	用	を	抑	制		
性	に	導	く	K ⁺	、	Cl ⁻	共	輸	送	体	(KCC2)	を	解	析	し	た	。			
結	果	:	坐	骨	神	經	結	紮	後	、	下	肢	運	動	機	能	(SFI)	は		
急	激	に	低	下	し	、	術	後	7	日	で	最	低	値	を	示	し	、	21	
~	28	日	の	間	で	有	意	に	改	善	す	る	が	、	以	後	変	化	せ	
ず	、	56	日	で	も	有	意	に	低	値	で	あ	っ	た	。	坐	骨	神	經	
は	7	日	で	す	べ	て	の	軸	索	が	変	性	し	、	14	日	に	無	髓	
軸	索	が	現	れ	、	28	日	か	ら	は	軸	索	の	再	生	・	髓	鞘	化	
が	進	行	し	、	56	日	に	は	有	髓	軸	索	の	密	度	が	結	紮	前	

と	同	程	度	に	回	復	し	た	。	坐	骨	神	経	が	変	性	す	る	7
日	ま	で	に	、	ChAT	の	減	少	、	ガ	ラ	ニ	ン	の	出	現	、	ミ	
ク	ロ	グ	リ	ア	の	活	性	化	、	KCC2	の	減	少	が	見	ら	れ	た	。
軸	索	が	変	性	し	て	い	る	間	、	ガ	ラ	ニ	ン	の	発	現	は	継
続	し	た	。	低	下	し	た	ChAT	は	、	無	髓	線	維	の	再	生	と	
そ	の	髓	鞘	化	に	伴	い	徐	々	に	増	加	し	、	56	日	ま	で	に
回	復	し	た	。	神	経	変	性	・	再	生	時	、	ミ	ク	ロ	グ	リ	ア
が	活	性	化	さ	れ	、	そ	の	期	間	、	KCC2	の	発	現	は	低	下	
し	た	ま	ま	で	あ	っ	た	。	ミ	ク	ロ	グ	リ	ア	の	活	性	化	が
終	了	す	る	と	、	KCC2	の	発	現	は	増	加	に	転	じ	、	神	経	
再	生	が	終	了	す	る	タイ	ミ	ン	グ	で	回	復	し	た	。	こ	れ	
ら	の	変	化	は	、	我	々	が	こ	れ	ま	で	に	報	告	し	た	神	経
切	断	後	の	変	化	と	比	べ	、	緩	徐	に	進	行	し	て	い	た	。
考	察	:	以	上	の	結	果	か	ら	次	の	可	能	性	が	示	唆	さ	れ
た	。	①	坐	骨	神	経	の	緩	い	結	紮	は	、	切	断	と	比	較	し
て	緩	徐	な	神	経	変	性	・	再	生	を	誘	導	す	る	。	②	ミ	ク
ロ	グ	リ	ア	の	活	性	化	及	び	KCC2	の	発	現	低	下	に	よ	る	
GABA/	グ	リ	シ	ン	の	興	奮	性	作	用	が	神	経	の	再	生	に	寄	
与	す	る	。																