

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2009.03) 9巻1号:45~46.

平成19年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題
1) ヘパラン硫酸プロテオグリカン(HSPG)による損傷神経再生の促進

村上公一、吉田成孝

依頼稿 (報告)

平成19年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題

1) ヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG) による 損傷神経再生の促進

研究代表者 村上 公一
吉田 成孝

[背景・目的]

末梢神経は軸索損傷等の神経傷害に対して、生存・再生し機能回復が可能であるが、脳・脊髄といった中枢神経系では神経傷害に対して脆弱であり、機能回復には至らない。この理由として、末梢神経損傷においてのみ発現し、神経再生を促進する因子の存在が考えられる。

我々は現在までに、末梢神経損傷においてのみ発現上昇を認める因子として、糖蛋白の一種であるシンデカン-1 (syndecan-1) を見出している。

シンデカン-1 は神経細胞に対し生存効果を持つ種々の栄養因子の共受容体として機能することが既に知られている。このことから、シンデカン-1 の発現を認めない中枢神経において損傷時にシンデカン-1 を導入することにより、機能回復を促進させることが可能ではないかと考えている。

そこで本研究では末梢神経傷害時のシンデカン-1 の発現を詳細に検討し、また、シンデカン-1 による中枢神経損傷の治療の可能性を検討した。

[内容・方法]

1. 実験モデル作成：末梢神経損傷モデルとして、舌下神経切断マウスを用いた。また中枢神経損傷モデルとして、赤核脊髄路切断マウスおよび脊髄損傷 (圧挫損傷) マウスを用いた。脊髄損傷マウスは8週間の行動評価をおこなった。
2. RT-PCR 法：マウス舌下神経切断後1、3、7、14、28日後の舌下神経核を採取し、RT-PCR 法によりシンデカン-1 mRNA の発現を定量的に検討した。

3. 組織学的検討：マウス舌下神経切断後1、3、7、14、28日後の延髄を採取し、in situ hybridization 法によりシンデカン-1 mRNA の発現を検討した。またシンデカン-1 特異的抗体を用いた免疫組織化学をおこなった。

4. 脊髄損傷に対するシンデカン-1 の効果の検討：マウスに脊髄損傷 (圧挫損傷) を加え、同時にアデノウイルスベクターを用いてシンデカン-1 の遺伝子導入をおこなった。その後8週間の行動評価をおこなった。

[結果・成果]

1. 損傷神経におけるシンデカン-1 の発現

舌下神経損傷マウスを用いて、シンデカン-1 の発現を RT-PCR 法および in situ hybridization 法で検討した。損傷のない舌下神経においては全く発現を認めないが、神経切断により7日目をピークとする強い発現を認めた (図1)。

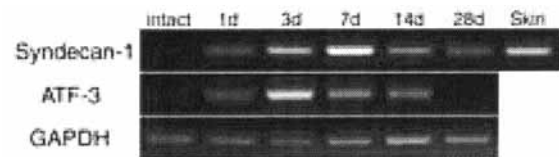


図1 損傷舌下神経核を用いた RT-PCR。

(ATF-3 は神経損傷のマーカー、GAPDH は内部調整として使用)

また、シンデカン-1 に特異的な抗体を用いた免疫染色においても、これらと同様の結果が得られた。さらに、シンデカン-1 が神経損傷部に順行性に輸送され、切断端に局在していることも確認された。

一方、中枢神経損傷 (脊髄損傷・赤核脊髄路切断モデル) では、軸索損傷を受けた神経細胞ではシンデカ

ン-1の発現を認めなかった。

以上の結果より、神経損傷に対するシンデカン-1の発現上昇は、末梢神経特異的であり、これが末梢神経再生に関与している可能性が示唆された。

2. 脊髄損傷に対するシンデカン-1の効果の検討

前述の結果より、シンデカン-1が損傷神経の再生に関与している可能性が示唆された。そこで、シンデカン-1の発現上昇が認められなかった脊髄損傷において、シンデカン-1を強制的に発現させることにより、機能回復を図ることが可能かどうか検討した。

我々はシンデカン-1の導入により、種々の生存因子が効率的に損傷神経に作用し、軸索再生が促進され、運動機能が改善されると予想していた。しかし、結果は逆であり、シンデカン-1導入群の方がコントロール群に比し運動機能の回復が遅延する傾向を示した。一方、慢性期における運動機能はコントロール群と差は無かった(図2)。

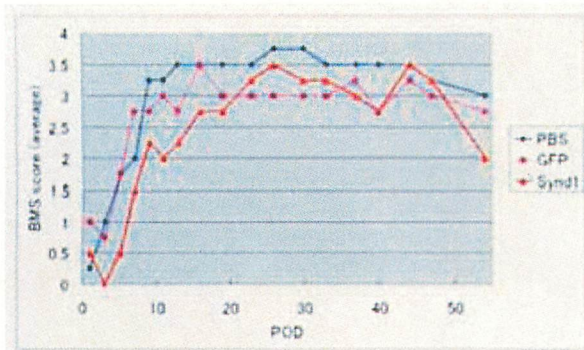


図2 シンデカン-1投与群 (Synd1) とコントロール群 (PBS, GFP) の運動機能の推移。急性期においてシンデカン-1投与群の機能回復が遅延している。

[考察]

本研究により、末梢神経損傷ではシンデカン-1が発現するが、中枢神経損傷では発現しないことが示された。このことから、シンデカン-1が損傷神経の再生に寄与している可能性が示唆された。

しかし、シンデカン-1が発現しない脊髄損傷において、シンデカン-1を強制発現させると、急性期の運動機能の回復が遅延した。我々はこの理由を以下のように考えた。本来神経細胞に結合するはずの成長因子などが、強制発現したシンデカン-1にトラップさ

れ、その拡散性が低下した。その為、栄養因子が十分に神経細胞に結合することができなくなり、神経再生の遅延が生じ、その結果機能回復が遅延した。したがって、単純にシンデカン-1を発現するだけでは、脊髄損傷における機能回復は困難であるとの結論となった。