

論文内容要旨

Endoplasmic reticulum stress transducer old
astrocyte specifically induced substance
contributes to astrogliosis after spinal cord injury

(小胞体ストレスセンサーOASISは脊髄損傷後の
グリオシスに関与する)

NEURAL REGENERATION RESEARCH,

13(3):536-540, 2018.

主指導教員：安達 伸生教授
(医歯薬保健学研究科 整形外科学)
副指導教員：大段 秀樹教授
(医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科学)
副指導教員：久保 忠彦准教授
(医歯薬保健学研究科 整形外科学)

高澤 篤之

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【目的】

脊髄損傷では、外力による機械的な損傷の後、炎症などによる二次損傷によって細胞死、脱髄および軸索損傷が拡大するため、二次損傷の制御は脊髄損傷の重要な治療戦略の一つとなっている。近年、この二次損傷に対する小胞体ストレスの関与が注目され始めている。小胞体ストレスとは、炎症などによって生じた変性タンパクが小胞体に蓄積して細胞機能を妨げることであるが、細胞には小胞体ストレス応答と呼ばれる防御システムが備わっており、小胞体ストレスを感知するセンサーの中にはあらゆる細胞に発現するものと、組織特異的な発現分布を示すものがある。小胞体ストレスセンサーの一つである OASIS は胎生期においてアストロサイトに特異的に発現し、グリア形成に関与すると報告されている。そこで本研究では、損傷脊髄における OASIS の時間的・空間的発現変化を明らかにし、脊髄損傷後のグリオシスとの関連について検討することを目的とした。

【方法】

10 週齢の C57BL/6 マウスで、IH インパクトターを用いて第 10 胸椎高位の脊髄に 70kdyn の圧挫損傷を加え脊髄損傷モデルを作製した。損傷後 1, 3, 7, 14 日において、脊髄損傷部の OASIS の mRNA 発現を real-time PCR で、OASIS の蛋白発現を Western blotting で評価した。脊髄損傷後 7 日目モデルから脊髄損傷部の組織切片を採取し CREB3L1 を用い OASIS を、GFAP を用いてアストロサイトの免疫染色を行い、発現部位を評価した。さらに脊髄損傷後 5 日目モデルの脊髄損傷部の中枢側と末梢側に 33G 針を刺入し、OASIS siRNA 注入群、scrambled siRNA 注入群、針を刺入したのみの control 群の 3 群を作成した。それぞれの群で OASIS mRNA 発現を real-time PCR で、OASIS の蛋白発現を Western blotting で、さらに脊髄損傷 7 日目と 14 日目の損傷脊髄を採取し OASIS とアストロサイトの発現部位を免疫染色で、後肢運動機能を Basso mouse scale for locomotion(BMS)を用い脊髄損傷後 42 日まで評価した。

【結果】

OASIS の mRNA の発現は、損傷後 7 日のみで著明な上昇を認めた。免疫染色では、損傷後 7 日に脊髄損傷中心部の GFAP 陰性領域と陽性領域の境界部に一致して OASIS の発現を認めた。OASIS siRNA 注入群では脊髄損傷 7 日目で有意に OASIS mRNA は抑制され、脊髄損傷 7 日目と 14 日目で OASIS 蛋白は有意に抑制された。OASIS siRNA 注入群の免疫染色において脊髄損傷 7 日目で反応性アストロサイトの発現が乏しく、脊髄損傷 14 日目のグリオシスが抑制されていた。後肢運動機能評価では OASIS siRNA 注入群は脊髄損傷 42 日目で BMS 回復は有意に低値を示した。

【考察】

これまでの脊髄損傷における小胞体ストレスの報告は、損傷後早期の細胞死に関するものが多いが、本研究で注目した小胞体ストレスセンサー OASIS は、細胞死が収束してグリオシスが盛んとなる時期に発現が上昇しており、グリオシスの最前線で隣接したアストロサイトに特異的に発現していたことから、脊髄損傷後のグリオシスの進展に関与して

いる可能性が考えられた。正常な中枢神経ではアストロサイトはエネルギー供給，血流調整，細胞外液の恒常性維持，シナプスのリモデリング調整などに重要な役割を持つが，損傷した中枢神経ではグリオオーシスを起こし脊髄損傷の時期に応じて有害にも有益にもなり得る。OASIS の発現を制御することにより，グリオオーシスの効果を制御することは，脊髄損傷の治療の新しいアプローチとなり得る。