

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 1864 号

Semaphorin 3A expression following intestinal ischemia/reperfusion injury in Sox10-Venus mice

(Sox10-Venus マウスにおける腸管の虚血再灌流障害によるセマホリン 3A の発現)

武田 昌寛 (たけだ まさひろ)

博士 (医学)

論文内容の要旨

セマホリン 3A は神経系の発生、神経疾患、炎症性疾患などの様々な病態に関与するタンパクである。近年の報告で、虚血再灌流腎臓障害モデルにおいてセマホリン 3A が早期に上昇することが示されている。一方で、腸管の虚血再灌流障害における神経系の変化はいくつかの論文で評価されているが、報告数としては稀少である。

今回我々は、腸管虚血再灌流障害と神経障害の関連性を明確にすべく、神経堤細胞マーカーである Sox10 遺伝子を蛍光緑色タンパクである Venus に付帯させた Sox10-Venus マウス(トランスジェニックマウス)を使用し、腸管の虚血再灌流障害における神経系細胞の評価とセマホリン 3A の発現性、関係性に関して研究した。

方法は、Sox10-Venus マウスの回腸を使用し、腸間膜血管と検体となる部位の両端の腸管壁を閉塞させ、同部位に 3 時間の虚血を生じさせた。その後、閉塞解除し再灌流させた。再灌流後 0, 3, 12, 24, 48, 96 時間のタイミングでそれぞれのマウスから検体を採取した。採取した検体を免疫染色し、セマホリン 3A に関しては ImageJ で輝度と染色部位の面積を評価し発現量を比較した。また神経細胞に関しては PGP9.5 で染色し、神経細胞数の変化を評価した。グリア細胞、神経節に関しては Sox10 の発現を蛍光顕微鏡で評価した。

結果としてセマホリン 3A は、再灌流後 3, 12 時間の群において著明な上昇が認められた。その後は徐々に発現の低下を認め 96 時間の時点では、コントロールと同程度まで低下を認めた。Sox10 に関しては、まず実体顕微鏡による評価を行い、0, 3, 12 時間の群において発現の低下が認められた。蛍光顕微鏡を使用し、より高倍率で切片を観察すると発現の変化はより著明に観察できた ($p < 0.05$)。また 24 時間以降の群においては徐々に Sox10 の発現の回復を認め、96 時間の群においてもその過程は顕著に観察された。一方で PGP9.5 に関しては細胞数の低下傾向を認めるも、有意な差は認められなかった。

以上の結果より、セマホリン 3A と Sox10 はいずれも再灌流障害後、早期に反応が認められ、特に Sox10 の方が早期の段階で変化が認められ、腸管虚血再灌流障害との関連性が示唆された。また PGP9.5 に関しては有意差が認められず、グリア細胞に比べ神経細胞の変化が乏しいことも同様に観察された。さらに、今後セマホリン 3A が腸管虚血再灌流障害のバイオマーカーとなり得るか更なる研究が必要である。