

ポスター

ラット海馬における脳特異的コンドロイチン硫酸プロテオグリカン
(neurocan, phosphacan/PTP) の局在とけいれん発作にともなう変化

倉園昔子, 崎山順子, 森 秀治, 岡本 基 (岡山大学医学部保健学科)

脳特異的コンドロイチン硫酸プロテオグリカンである neurocan と phosphacan/PTP は神経組織における神経回路の形成や損傷後の神経突起伸展の制御に重要な機能をもつことが明らかにされている。海馬は脳の中でもっともてんかん原生焦点を形成しやすいことが知られているが、我々は海馬の神経回路形成や損傷後の神経回路の再編に neurocan や phosphacan/PTP が関与しているのではないかと考えた。

まず、全長の neurocan と neurocan-C を認識するモノクロナール抗体 1G2 と phosphacan と全長の PTP (PTP -A) を認識するモノクロナール抗体 6B4 を使って新生児期から成熟期にいたる Sprague-Dawley(SD)ラット海馬での免疫反応の変化をみた。新生児期の海馬では 6B4 免疫反応は subiculum と CA1 の stratum lacunosum moleculare にみられるだけだったが、1G2 免疫反応は歯状回分子層と hilus, CA 野 (アンモン角) の stratum oriens, radiatum, lacunosum moleculare に瀰漫性に検出され、生後 1 週目にピークに達した。生後 2 週目以降 1G2 免疫反応は減少し、生後 6 週目には stratum lacunosum moleculare にわずかに検出されるだけになった。かわって、6B4 免疫反応は生後 3 週目頃から増強し始め、生後 6 週目までには歯状回内分子層と hilus, CA 野の stratum oriens, radiatum に瀰漫性に検出されるようになった。さらに、歯状回内分子層、顆粒細胞層と hilus, CA 野の stratum oriens と錐体細胞層に点在する神経細胞と樹状突起の周囲に強い 6B4 免疫反応がみられた。これらの神経細胞はいず

れも parvalbumin(PV)陽性であったことから、大脳皮質におけると同様に、海馬でも phosphacan/PTP が PV 陽性 GABA 性介在ニューロンの perineuronal netsを形成していることがわかった。新生児期から成熟期にいたるどの時期にも苔状線維の走行路である stratum lucidum には 1G2, 6B4 免疫反応は検出されなかった。遺伝性てんかんラット Ihara's epileptic rat (IER) は、海馬錐体細胞の遊走異常を示し、生後 5ヶ月前後から大脳辺縁系起源の全身けいれん発作を起す。IER の海馬では出生時にすでに海馬錐体細胞の遊走異常がみられ、この時期の 1G2, 6B4 免疫反応は SD ラットと差がなかったことから neurocan や phosphacan/PTP が遊走異常に関わっているかどうかは不明であったが、生後 1 ~ 3 週の 1G2 免疫反応は SD ラットに比べて弱く、これが神経回路の形成異常に関与している可能性が示唆された。6B4 免疫反応は生後 3ヶ月目までは SD ラットと差がなかったが、生後 8ヶ月目では歯状回内分子層の免疫反応が減弱ないし消失していた。自発けいれん発作を繰り返したラットでは歯状回内分子層への苔状線維の異常な発芽が見られることが知られており、phosphacan/PTP の減少がこれと関係している可能性があると考えられた。

ラットにカイニン酸 (KA)を全身投与すると数時間に及ぶ全身けいれん発作重積が起こり、歯状回 hilus の神経細胞と錐体細胞(主として CA1)の細胞死が起こる。これらのラットのかなりが後に大脳辺縁系起源の自発性けいれん発作を起すようになる。ウエスタンブロットでは KA 投与後 24 時間以内に phosphacan が減少し始め、72 時間後には明らかな減少がみられた。いっぽう、正常成熟ラットでは neurocan-C だけが検出されたが、KA 投与後 4 時間以内に全長の neurocan が出現し、24 時間までにピークに達した。免疫組織化学では 3 日目以降 neuropil layer での 6B4

免疫反応減少がみられ、これは錐体細胞消失の程度と相関していた。また、PV陽性介在ニューロン周囲の6B4陽性perineuronal netsが減少していた。いっぽう、1G2免疫反応はstratum lucidumを除いて海馬全体に瀰漫性に分布していた。これらの変化はKA投与後8週には一部のラットで回復していた。KAけいれん重積後の1G2, 6B4免疫反応の変化は新生児期から成熟期にいたる変化と酷似しており、neurocan, phosphacan/PTPが神経回路の再編に関与していることが示唆された。また、PV陽性介在ニューロンは数百 μ mにわたって樹状突起を伸ばして互いにギャップ結合でつながっており、CA1錐体細胞の同期放電の発生に重要と考えられている。6B4陽性perineuronal netsの減少はこの介在ニューロンの機能に影響し、てんかん発作で見られる同期した過剰放電の発生に関わっている可能性があると考えられる。