

新生仔の急性鼻腔炎症に伴う脳の変化

菅井 菜美¹⁾ 青山 祥大¹⁾ 鈴木 南緒¹⁾
浅野 妃南²⁾ 石井 さなえ³⁾

1) 杏林大学保健学部臨床検査技術学科4年

2) 杏林大学大学院保健学研究科1年

3) 杏林大学保健学部臨床検査技術学科

はじめに

妊娠中の母体が感染し子宮内の胎児に炎症反応が起こると、胎児脳は損傷し自閉症などの脳機能障害の原因になる¹⁾。大人では炎症が起きても脳疾患には至らない。なぜ胎児脳の損傷は生後も持続するのか、その機構は不明である。そこで私たちは、胎児・新生児期の発達途中の脳と成体の完成した脳では炎症に対する免疫応答が異なるのではないかと考えた。先行研究では、成体マウスの鼻腔にリポ多糖 (LPS) を投与して鼻腔炎症を起こし、そのマウスの脳を解析した^{2,4)}。本研究では、新生仔マウスに鼻腔炎症を起こし、脳の反応を調べ、成体マウスとの違いを明らかにすることを目的とした。

方法

生後6日齢の雌雄のC57BL/6Jマウスの両側鼻腔に、LPS (1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) を3 μL 投与し鼻腔炎症モデルとした。対照には生理食塩水を同量投与した (図1)。組織学的解析のため、LPS投与12, 24, 48時間後、2週間後 (n=3, 2, 4, 5) にマウスを灌流固定し、凍結切片を作製、免疫染色を行った。また、投与12, 24, 48時間後に新鮮脳組織を採取し、RNAを回収後、定量的RT-PCRを行った (生理食塩水: n=4, 6, 4, LPS: n=5, 6, 4)。

結果

組織学的解析の結果、LPS投与群では、嗅上皮中に好中球 (Ly6G+) が浸潤し、炎症性サイトカインのIL-1 β が発現したことから、鼻腔炎症が起きたことを確認した。嗅球では、投与12時間後に外側の血管において細胞接着因

子のICAM-1の発現が急増し、好中球と単球 (CCR2+) が嗅球実質に一過性に浸潤した。リンパ球の浸潤は見られなかった。嗅球のミクログリアは、LPS投与48時間後に最も強く活性化した。そして2週間後において、特に尾側の嗅球外側部で局所的にミクログリアの活性化が持続した (図2)。

定量的RT-PCRの結果、LPS投与12時間後には、好中球を誘引するCXCL1、単球を誘引するCCL2などのケモカイン、またIL-1 β 、TNF α など炎症性サイトカインの発現が嗅球において増加した。抗炎症性サイトカインであるIL-10はいずれの時間にも増加せず、TGF β はLPS投与12, 24時間後にわずかに発現が増加した。二重免疫染色の結果、CCL2及びIL-1 β を発現しているのは、主にミク



図1 新生仔マウスへの鼻腔投与。イソフルランによる麻酔下で行った。

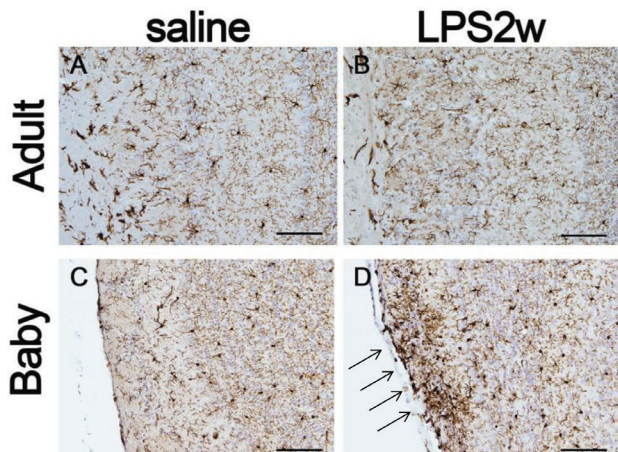


図2 投与2週間後のミクログリア(抗Iba-1抗体により染色)。新生仔では2週間後もミクログリアの活性化が持続した。スケール100 μm 。

ログリアであった。

考察

鼻腔炎症は嗅球における細胞接着因子及びケモカインの発現増加を促進し、単球や好中球を脳内に誘引したと考えられた。成体マウスでは脳内に浸潤した単球がケモカインや炎症性サイトカインを産生したが、新生仔マウスでは主にミクログリアが産生した。また、新生仔マウスではLPS投与2週間後でも、特定の部位でミクログリアの活性化が持続した。これらのことから、新生仔ミクログリアは炎症性の性質が高く、しかも長期間持続すると考えられる。

周産期は未熟なオリゴデンドロサイト前駆体がさかんに発達する時期である。オリゴデンドロサイト前駆体は

IL-1 β の受容体を発現しており、IL-1 β を介して細胞死が起こる⁵⁾。したがって、鼻腔炎症により活性化したミクログリアがIL-1 β を産生すると、周囲のオリゴデンドロサイトは減少し、ミエリンの菲薄化、白質障害を導き、脳機能障害の原因になる可能性がある。胎児・新生児の鼻腔炎症はその最初のきっかけになりうる。

謝辞

本研究を進めるのにあたりご協力頂いた島田教授、実験をサポートしてくださった方々に深く感謝致します。

参考文献

- 1) Estes ML and McAllister AK. Maternal immune activation : Implications for neuropsychiatric disorders. *Science*. 19 ; 353 (6301) : 772-7. 2016
- 2) Hasegawa-Ishii S, Shimada A, Imamura F. Lipopolysaccharide-initiated persistent rhinitis causes gliosis and synaptic loss in the olfactory bulb. *Sci Rep*. 7 (1) : 11605. 2017.
- 3) Hasegawa-Ishii S, Shimada A, Imamura F. Neuroplastic changes in the olfactory bulb associated with nasal inflammation in mice. *J Allergy Clin Immunol*. 143 (3) : 978-989. 2019.
- 4) Asano H, Hasegawa-Ishii S, Arae K, Obara A, Laumet G, Dantzer R and Shimada A. Infiltration of peripheral immune cells into the olfactory bulb in a mouse model of acute nasal inflammation. *J. Neuroimmunol*. In press
- 5) Xie, D. *et al*. IL-1beta induces hypomyelination in the periventricular white matter through inhibition of oligodendrocyte progenitor cell maturation via FYN/MEK/ERK signaling pathway in septic neonatal rats. *Glia* 64, 583-602.2016.