



Lysophosphatidic acid precursor levels decrease and an arachidonic acid-containing phosphatidylcholine level increases in the dorsal root ganglion of mice after peripheral nerve injury

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2019-05-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 三原, 唯暉 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003555

博士（医学） 三原 唯暉

論文題目

Lysophosphatidic acid precursor levels decrease and an arachidonic acid-containing phosphatidylcholine level increases in the dorsal root ganglion of mice after peripheral nerve injury

（末梢神経損傷後のマウス後根神経節においてリゾホスファチジン酸の前駆体は減少し、アラキドン酸含有リン脂質は増加する）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

マトリックス支援レーザー脱離イオン化法を用いたイメージング質量解析 (MALDI-IMS) は、従来の質量分析法に加え、局在分析を可能にした技術である。末梢神経損傷により後根神経節 (DRG) において様々な遺伝子の発現が変化することについて多数報告されているが、脂質変化について検討した報告はない。脂質は神経組織において最も豊富な生物分子であり、細胞膜における様々な細胞機能を担い、神経伝達物質としても働いている。我々は過去に坐骨神経損傷後の脊髄におけるリン脂質変化や脊髄損傷後のリン脂質変化および IL-6 阻害薬の効果について MALDI-IMS を用いて報告している。今回、坐骨神経損傷によって起こるマウス DRG での脂質変化を MALDI-IMS によって検討したため報告する。

〔対象ならびに方法〕

動物実験に関しては浜松医科大学動物実験委員会の承認を得た。マウスの処理は同大学での内規に従い、動物愛護の観点から苦痛軽減に十分配慮して麻酔下に行った。8 週齢の C57BL/6J マウスを用い、坐骨神経損傷のないコントロール、損傷後 5 日での DRG の凍結標本を作製した。その後、Solarix XR (Bruker Daltonics) を用いて MALDI-IMS を行った (n=3 respectively)。測定スペクトル範囲は mass-to-charge ratio (m/z: 分子量に同義) 600 から 1000 とした。得られた intensity データを fleximaging 4.0 を用いて Gray scale に変換し、ImageJ を用いて Histogram を作成した。統計学的検討としてはサンプルサイズが大きいため Cohen の検定を採用した。報告に準じて Cohen's d の値が 0.8 以上もしくは -0.8 以下を有意な変化とした。また連続した DRG 凍結切片において、F4/80 および P2RX4 抗体を用いて、それぞれマクロファージおよび P2X4 受容体の局在について検討した。

〔結果〕

先行研究に準じて神経組織に豊富に存在する 11 種のリン脂質について検討したところ、アラキドン酸含有リン脂質 (AA-PC) である phosphatidyl cholin (PC) (16:0/20:4) (m/z 820.5) は坐骨神経損傷後、DRG において有意に増加した。ドコサヘキサエン酸含有リン脂質は坐骨神経損傷後も変化は無かった。単飽和脂肪酸含

有リン脂質(MUFA-PC)において PC(16: 0/18: 1) (m/z 798.5) と PC(18: 0/18: 1) (m/z 826.5)は坐骨神経損傷後に DRG で有意に減少した。その後に網羅的脂質解析をしたところ、phosphatidic acid (PA) (36: 2)(m/z 739.5)が坐骨神経損傷後の DRG において有意に減少していた。F4/80 抗体陽性細胞は坐骨神経損傷後に DRG で著増していたが、神経障害性疼痛の発生に関係する P2RX4 抗体陽性細胞は坐骨神経損傷後も特に変化がみられなかった。

[考察]

1つの AA-PC が坐骨神経損傷後に DRG で増加していた。この PC は先行研究においても坐骨神経損傷後に脊髄において増加していた。同研究ではこの増加をマイクログリアの増加に一致すると報告しており、今回の研究は DRG という末梢神経系における検討であったためマクロファージの増加が関連していたと考察する。

2つの MUFA-PC が坐骨神経損傷後に DRG で減少していた。この2つの MUFA-PC はリゾホスファチジン酸(LPA)の前駆体である。LPA は神経障害性疼痛の initiator であると報告されており、2つの MUFA-PC は LPA の産生のために消費されたと考察した。

1つの PA が坐骨神経損傷後に DRG で減少していた。LPA 産生のもう1つのカスケードとして PA から LPA が産生されるものがある。それゆえ、この DRG における PA の減少も LPA 産生のための消費性減少と考察した。

神経障害性疼痛の initiator である LPA が坐骨神経損傷後の DRG において増加する可能性が今回の脂質解析から示唆された。神経障害性疼痛治療として LPA 阻害剤の報告は *in vivo* において報告されているが、臨床応用にまでは至っていない。今回の研究結果は LPA 阻害剤臨床応用の可能性を広げるものと考ええる。

[結論]

マウス坐骨神経損傷後の DRG においてアラキドン酸含有リン脂質である PC(16: 0/20: 4) (m/z 820.5)は増加し、リゾホスファチジン酸の前駆体である PC(16: 0/18: 1) (m/z 798.5) 、PC(18: 0/18: 1) (m/z 826.5)、PA (36: 2) (m/z 739.5)は減少する傾向があった。