

## Senescence-associated- $\beta$ -galactosidase staining following traumatic brain injury in the mouse cerebrum

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2021-02-02 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 富永, 禎弼 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.20780/00032734">https://doi.org/10.20780/00032734</a>

## 主論文の要約

Senescence-associated- $\beta$ -galactosidase staining following traumatic brain injury in the mouse cerebrum

(マウスモデルを用いた外傷性脳損傷での細胞老化マーカーの発現)

東京女子医科大学脳神経外科学教室

(指導：川俣貴一教授) (印)

富永 禎弼

PLoS One、14(3)、e0213673、(2019年3月11日発行)に掲載

### 【目的】

老化細胞は癌遺伝子の活性化や酸化ストレスなどにより DNA 損傷が生じることで不可逆的に増殖が停止した状態の細胞で、炎症性サイトカインや細胞外マトリックス分解酵素を産生し、慢性炎症の惹起などの生体に不利益をもたらすとされている。本研究では、外傷性脳損傷の病態を理解するため、外傷性脳損傷の脳内に老化細胞が出現するか否かについてモデル動物を作成し、検討した。

### 【対象および方法】

全身麻酔したマウス（10～13 週齢）の左頭頂骨に直径 5mm の骨窓を開け、pneumatic impact device を用いて硬膜の上から大脳に損傷を作成した。骨窓形成だけのマウスを Sham とした。受傷後 1、4、7、14 日目に安楽死させ、4%PFA/PBS で灌流固定した。脳の凍結切片を作製し、損傷脳における老化関連酸性  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を組織化学染色で、細胞老化誘導に関わる p16・p21・Cyclin D1 の発現を免疫染色および Real time PCR 法（以下 PCR 法）を用いて観察した。

### 【結果】

脳損傷マウスでは受傷後 1 日目は大脳の損傷部位に酸性  $\beta$ -ガラクトシダーゼは染色されなかったが、受傷後 4、7、14 日目には染色された。また、脳損傷マウスの非損傷側の大脳半球と Sham マウスの同部位には観察期間を通じて酸

性  $\beta$ -ガラクトシダーゼは染色されなかった。免疫染色では損傷後 4、7、14 日目に p16 が発現し、PCR 法による定量では損傷後 7、14 日目に損傷群損傷側で有意に増加した。P16 と GFAP 抗体の二重免疫染色ではアストロサイトに局在していた。同様に p21 については損傷後 4、7、14 日目に発現し、PCR 法による定量では損傷後 4、7、14 日目に損傷群損傷側で有意に増加した。NeuN 抗体・Iba1 抗体との二重染色ではニューロンおよびマイクログリアに局在していた。Cyclin D1 については損傷後 1、4、7、14 日目に発現し、PCR 法による定量では損傷後 4 日目に損傷群損傷側で有意に増加した。NeuN 抗体・Iba1 抗体との二重染色ではニューロン、マイクログリア、アストロサイトに局在していた。

#### 【考 察】

脳損傷マウスでは大脳の損傷側に損傷後 4、7、14 日目に老化関連酸性  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現が有意に増加した。細胞周期の G1 期から S 期に発現する Cyclin D1 は損傷群損傷側のニューロン、マイクログリア、アストロサイトに発現し、損傷後 4 日目に有意に増加した。一方で、細胞周期を抑制し、細胞が老化した時に発現する p16 は損傷群損傷側のアストロサイトに発現し、損傷後 7、14 日目に有意に増加した。同様に細胞周期を抑制し、細胞老化の誘導に関与する p21 は損傷群損傷側のニューロンとマイクログリアに発現し、損傷後 4、7、14 日目に有意に増加した。外傷性脳損傷後、脳細胞周期が活性化され、その後、細胞老化のマーカが発現し、細胞周期が抑制されることが確認できた。

#### 【結 論】

外傷性脳損傷後、脳細胞周期が活性化され、その後、細胞老化のマーカが発現し、細胞周期が抑制されることが確認できた。外傷性脳損傷は細胞老化につながる可能性が示唆された。