

学位論文の要旨

三重大学

| | | | |
|----|--|----|----------------------------------|
| 所属 | 三重大学大学院医学系研究科 乙 生命医科学専攻 臨床医学系講座 運動器外科学・腫瘍集学治療学分野 | 氏名 | 浅野 貴裕 <small>あきの たかひろ</small> |
|----|--|----|----------------------------------|

主論文の題名

Pathological features of reinnervated skeletal muscles after crush injury of the sciatic nerve in ob/ob mice

主論文の要旨

[緒言]

末梢神経障害の治療は筋力や感覚障害の回復がゴールとなる。臨床では、治療によって適切な神経軸索再生や骨格筋の再神経支配が生じているにも関わらず、運動機能の回復が悪い例がみられる。脱神経後の骨格筋では筋体積の減少やサテライトセルの減少、筋線維タイプシフト、線維組織の形成といった生化学的および生理学的変化が生じているが、さらに基礎疾患が骨格筋の再神経支配の過程を阻害しているかもしれない。

肥満による脂肪沈着は心臓や肝臓において炎症や線維化を生じ、心筋拡張障害、非アルコール性肝障害といった変化を引き起こす。この過程は脂肪毒性と定義され、骨格筋でも同様の変化が危惧されるため、我々は末梢神経障害後に過剰なコラーゲン沈着があるのではないかと仮説を立てた。本研究の目的は、

1. 肥満モデルマウスである ob/ob マウスの骨格筋を評価
 2. 脱神経後骨格筋における筋線維、脂肪細胞蓄積、コラーゲン沈着を評価
- することである。

[方法]

20 匹の ob/ob マウスおよびコントロールマウスを用いて実験を行った。体重および筋湿重量を測定した後に組織学的評価、免疫組織学的評価および Sircol コラーゲン分析を用いて腓腹筋の評価を行った (n=5)。組織学的評価は新鮮凍結切片を作成した後に、nicotinamide adenine dinucleotide-tetrazolium reductase 染色、Picro-Sirius red 染色を行った。それぞれ無作為 15 視野で筋線維タイプごとの断面積やコラーゲン面積を測定し、type I グルーピングについても計測した。また免疫組織学的評価では、Perilipin 1、type I コラーゲンの免疫染色を行い、同様に脂肪細胞数、コラーゲン面積を測定した。Sircol コラーゲン分析では、前脛骨筋を用いて骨格筋内のコラーゲン量を測定した。次にマウスにペントバルビタール腹腔内投与による麻酔を行った後に右後肢を切開し、鋭な鑷子で坐骨神経を 15 秒間摘まむことで挫滅させた。術後 1、2、4 週 (各 n=5) で Sciatic Functional Index(SFI)を用いた神経機能評価を行った後に、同様に骨格筋の評価を行った。

[結果]

Ob/ob マウスにおいて体重はコントロールマウスと比較して有意に重いにも関わらず、前脛骨筋および腓腹筋の筋湿重量は有意に小さかった。組織学的評価では、ob/ob マウスの type II 線維断面積が有意に小さく、type I グルーピング率が高かった。さらに ob/ob マウスの骨格筋では有意に多くの脂肪細胞を認め、コラーゲン断面積も増加していた。コラーゲン分析でも同様に ob/ob マウスでコラーゲン量の有意な増加を認めた。

神経損傷後の SFI では、両群ともに損傷直後に最も低下し、その後徐々に改善を認めた。いずれの時期においても 2 群間の SFI に有意差は認めなかった。しかし、受傷 4 週後の筋線維断面積では type I 線維に有意差を認めなかったが、type II 線維は ob/ob マウスで有意に小さく、さらに type I グルーピング率が増加していた。再神経支配後の骨格筋では両群ともに脂肪細胞数および筋線維間のコラーゲン沈着が増加しており、特に ob/ob マウスで顕著であった。

[考察]

肥満で肝臓や心臓に生じる異所性脂肪沈着が、今回 ob/ob マウスの骨格筋でも生じていた。Ob/ob マウスの骨格筋では筋線維間の type I コラーゲンの増生が生じ、また type II 筋線維断面積の減少、骨格筋萎縮がみられた。これらの結果は過去に報告された *in vitro* における肝臓での研究や肥満患者における肝臓、心臓での研究と類似しており、肥満患者における骨格筋では脂肪毒性による慢性炎症によって萎縮をきたした可能性がある。実際、肥満成人では大腿四頭筋の筋力が低下していたとする報告もある。

神経損傷後の機能評価において、術後 4 週時の ob/ob マウス骨格筋では type II 線維の断面積低下や type I グルーピング率および筋線維間のコラーゲン沈着が増加しているにも関わらず、SFI では 2 群間に有意差を認めなかった。一般的に type I 線維は抗重力筋とされるが、今回 type I 線維の回復には差がなく、このことが SFI で差がみられなかった要因かもしれない。一方 type II 線維は速筋として骨格筋筋力と関連し、type I グルーピングは脱神経や再神経支配過程における加齢との関連性が報告されている。本研究では筋力測定は行っていないが、ob/ob マウスにおける神経損傷後の type II 線維断面積の低下や type I グルーピング率の増加から、肥満患者では神経損傷後の筋力改善不良が潜在している可能性が示唆された。

線維化は細胞外マトリックスへのコラーゲンの過剰な蓄積と定義され、肝臓や心臓といった様々な組織で機能障害を生じることが報告されている。心筋線維では心筋の stiffness を引き起こし、心筋の拡張障害や機能不全を生じさせる。神経損傷後に筋線維間にコラーゲン沈着が増加することは過去にも報告されている。本研究でも同様に神経損傷後の骨格筋ではコラーゲン沈着が増加しており、特に ob/ob マウスで増加が顕著であった。骨格筋における線維化の病理学的所見は他の臓器ほど研究されていないが、骨格筋の線維化は筋ジストロフィーや筋炎、外傷後にも線維化は生じ、骨格筋内へのコラーゲンの過剰な蓄積は、心筋同様に骨格筋の stiffness を引き起こし、収縮力低下に寄与しているかもしれない。

本研究において、神経損傷後の ob/ob マウスの骨格筋では、type II 線維断面積の有意な低下だけでなく、type I グルーピング率やコラーゲン沈着の有意な増加がみられた。これらの結果から、肥満患者では末梢神経疾患治療後の筋機能が十分に改善せず、治療成績が不良となる可能性が示唆された。