

Title	Temporal Changes in Cell Marker Expression and Cellular Infiltration in a Controlled Cortical Impact Model in Adult Male C57BL/6 Mice
Author(s)	金, 雪梅
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59702">https://hdl.handle.net/11094/59702</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	金 雪 梅 (Xuemei Jin)
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25878 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体生理医学専攻
学位論文名	Temporal Changes in Cell Marker Expression and Cellular Infiltration in a Controlled Cortical Impact Model in Adult Male C57BL/6 Mice. (成体オス C57BL/6 マウス脳挫傷後の免疫系細胞のマーカーの発現の変化)
論文審査委員	(主査) 教授 山下 俊英 (副査) 教授 望月 秀樹 教授 島田 昌一

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

Traumatic injury to the central nervous system (CNS) triggers a robust inflammatory response that leads to axonal damage and secondary degeneration of spared tissue. In contrast, some immune responses have neuroprotective effects. However, detailed information regarding the dynamics of immune responses after traumatic CNS injury is still unavailable. In the present study, we quantified the accumulation of neutrophils, macrophages, T cells, dendritic cells, and microglia by flow cytometry in the injured brain, cervical lymph nodes (CLNs), and spleen up to 4 weeks after controlled cortical impact (CCI), an experimental model of traumatic brain injury. Immunohistochemical analysis was also performed to characterize the Iba1<sup>+</sup> microglia and macrophages accumulated in the brain.

## 〔方法ならびに成績〕

Method: Adult male C57BL/6 mice (8-10 weeks old) were used throughout the whole study. In these mice, surgical operations of CCI were performed. At 1, 3, 7, 14, 21, and 28 d post-injury, the mice were transcardially perfused with ice-cold phosphate buffered saline, and the brain, CLNs, and spleen were rapidly moved. Leukocytes were isolated from the tissues and quantified by flow cytometry and immunohistochemical analysis.

Results: The number of neutrophils and macrophages that infiltrated the injured brain immediately increased 1 d post-injury and declined rapidly thereafter. In the injured brain, resident microglia showed a bimodal increase during the first week and in the chronic phase (≥3 weeks) after injury. Increase in the Iba1<sup>+</sup> microglia/macrophages was observed around the injured site. Morphologic analysis showed that Iba1<sup>+</sup> cells were round at 1 week, whereas those at 3 weeks were ramified. Furthermore, CD86<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup> M1-like microglia increased at 4 weeks after CCI, whereas CD206<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup> M2-like microglia increased at 1 week. These results suggest that different

subsets of microglia increased in the acute and chronic phases after CCI. Dendritic cells and T cells increased transiently within 1 week in the injured brain. In the CLNs and the spleen, T cells showed dynamic changes after CCI. In particular, the alteration in the number of T cells in the CLNs showed a similar pattern, with a 1-week delay, to that of microglia in the injured brain.

〔総括〕

The data from this study provide useful information on the dynamics of immune cells in CNS injuries.

#### 論文審査の結果の要旨

上記学生は、中枢神経損傷後に生じる免疫反応が中枢神経損傷後の回復へどのような影響を与えるのかを調べるため、中枢神経損傷を対象としてマウス脳挫傷モデルを選び、損傷後に生じる脳実質での免疫反応を細胞レベルでフローサイトメトリーにより時系列に解析した。結果としては、中枢神経損傷後に脳実質に集まって来た好中球やマクロファージなどは損傷後の急性期にピークになるが、中枢神経で免疫担当細胞として様々な役割を担うミクログリアは急性期と慢性期に二峰性に集積することが分かってきた。また、フローサイトメトリーの実験方法だけではなく、免疫染色での結果でも同じ傾向があるということも示唆された。さらに、上記学生は、ミクログリアに着目し、中枢神経損傷後に二峰性に集積してくるミクログリアがそれぞれどのような性質を持つのかを説明するため、脳損傷後のmicrogliaにおいてMacrophageのM1とM2のmarkerで調べた。M1のようなmicrogliaは損傷後の慢性期に増殖するのに対し、M2のようなmicrogliaは急性期に増加するということが示唆された。上記学生は、中枢神経損傷後に、Microgliaが二峰性に増殖し、慢性期はM2のようなmicroglia、急性期はM1のようなmicrogliaが増殖することなどを示し、当該分野において極めて重要な発見を成し遂げた。このことから、学位申請にふさわしい研究成果であると考えられる。