

嗅球摘出ラットの病理組織学的検討

株式会社 奈良病理研究所
巽 壮生、巽 義美、巽 英恵

株式会社 日本バイオリサーチセンター
山口和政、村澤寛泰、中谷晶子、藤村京子

【目的】

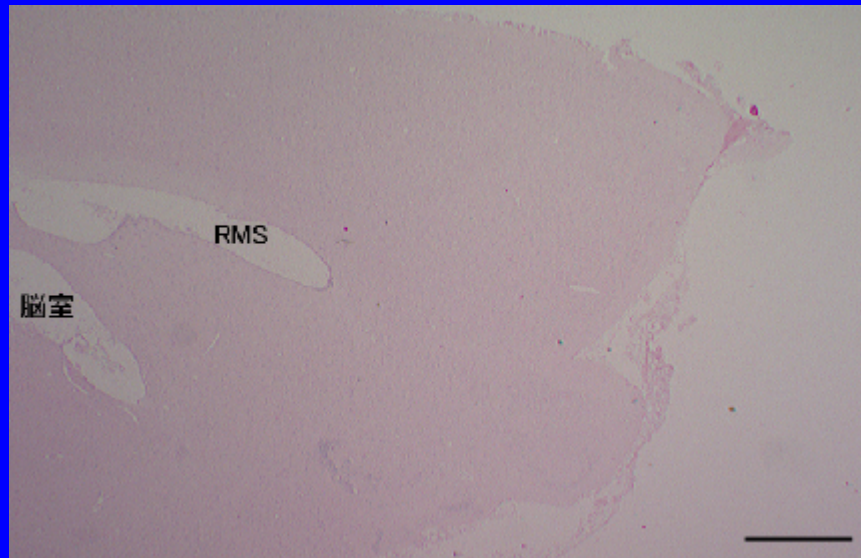
- 核磁気共鳴画像（MRI）を用いての研究においてラットの嗅球を摘出することにより、皮質・海馬・線条体および扁桃体での萎縮および脳室とrostral migratory stream（以下RMS）の拡張が見られることが明らかにされている。しかし、嗅球摘出ラットを用いた運動量亢進によるうつ病モデル動物の研究が多く行われているが、情動過多を指標とした典型的なうつ病モデル動物の病理組織学的検討を行った報告はない。そこで今回、嗅球摘出後のラット脳の経時的变化を病理組織学的に検討したので報告する。

【方法】

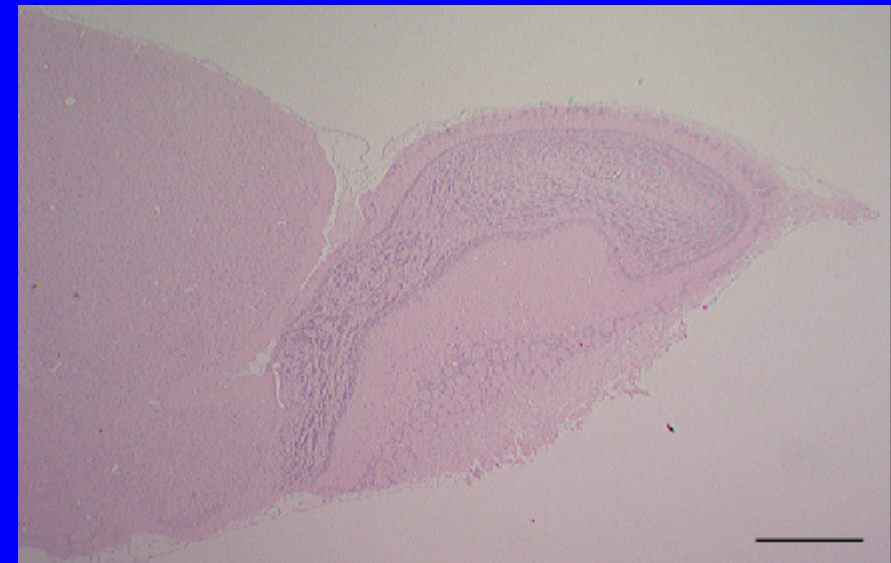
CrIj:Wistarラットをペントバルビタールナトリウムで麻酔した。脳定位固定装置にラットの頭部を固定後、嗅球を摘出し、暗室で個別に隔離飼育した。嗅球摘出後1日、3日、4日、7日、14日および21日に脳を摘出し、ブアン固定した。固定した脳を矢状断と冠状断により切り出し、HE染色、クリューバーバレラ染色（以下KB染色）、アストログリア免疫染色（以下GFAP免疫染色）、グリア型グルタミン酸トランスporter免疫染色（以下GLAST免疫染色）、セロトニン免疫染色、トリプトファン水酸化酵素免疫染色（以下TPH免疫染色）、チロシン水酸化酵素免疫染色（以下TH免疫染色）を行い、縫線核でセロトニン、TPH免疫染色陽性細胞数の、青斑核でTH免疫染色陽性細胞数の計測を行った。また、嗅球摘出後14日目より7日間、溶媒およびフルボキサミン、ミルナシプランおよびデシプラミンを連続投与し、脳を摘出してこれら抗うつ薬の効果を確認した。

嗅球摘出1日目

嗅球摘出部位 H&E染色



嗅球摘出1日目

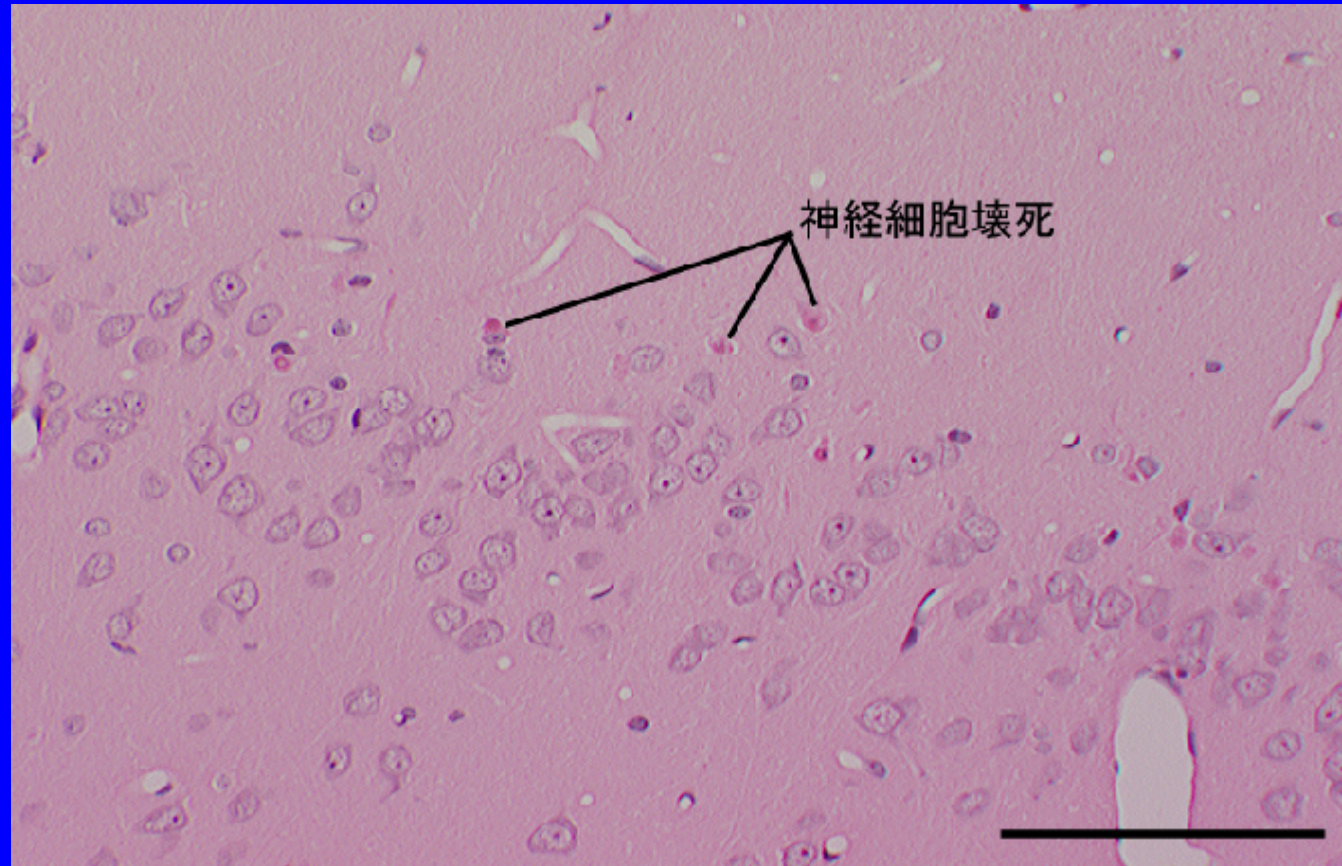


偽手術

このモデルにおいて重要な嗅球の摘出について説明します。
系球体、顆粒層を少し残し嗅球摘出、この時アスピレーターで嗅球を吸引すると同時に間接的に前頭前皮質に軽く組織障害を与えることがこのモデルを作製するに当たっての重要なポイントです。
嗅球摘出1日目ですすでに修復のためにRMS,脳室の拡張がみられます。

嗅球摘出1日目

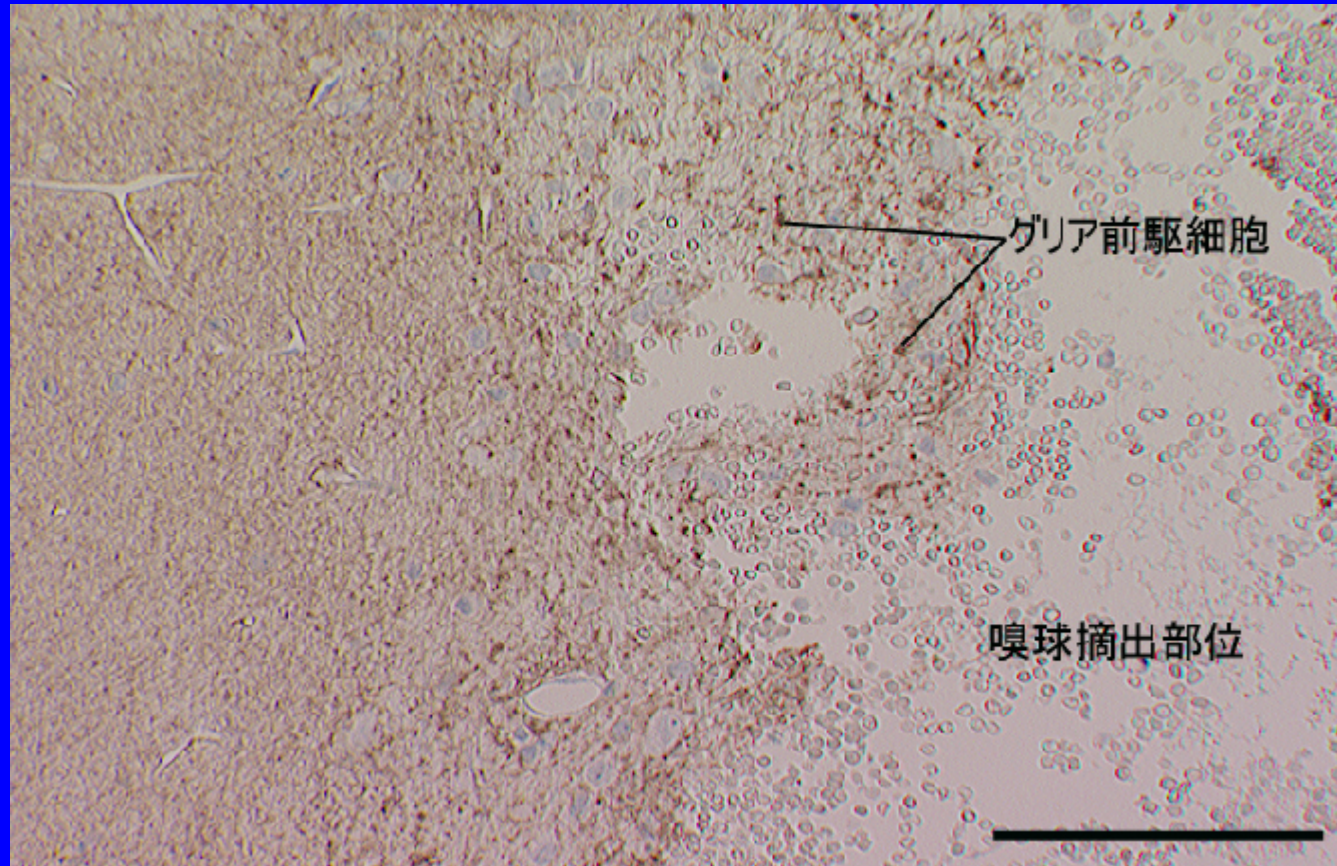
梨状皮質 H&E染色



嗅球摘出により、中枢から嗅球への入力線維の90%が集中している梨状皮質に、1～2日目までの間 神経細胞死（ネクローシス）が見られます。

嗅球摘出1日目

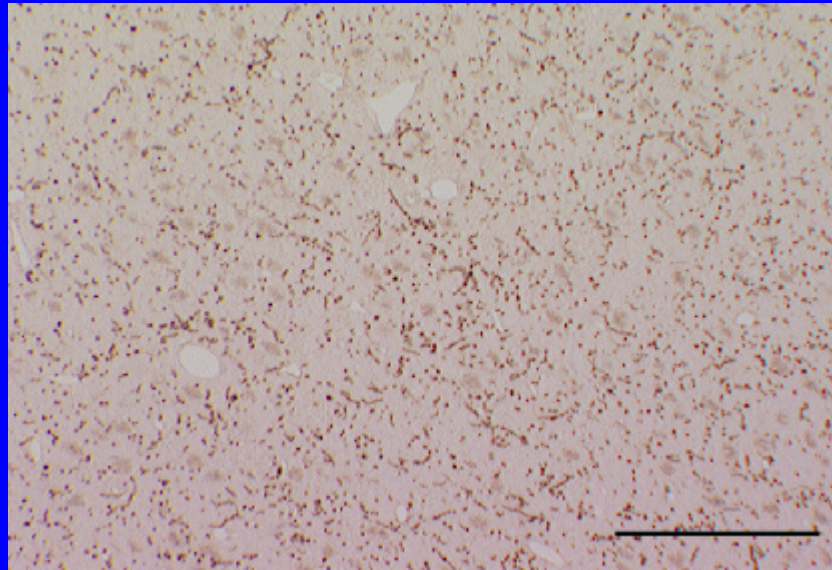
嗅球摘出部位 GLAST免疫染色



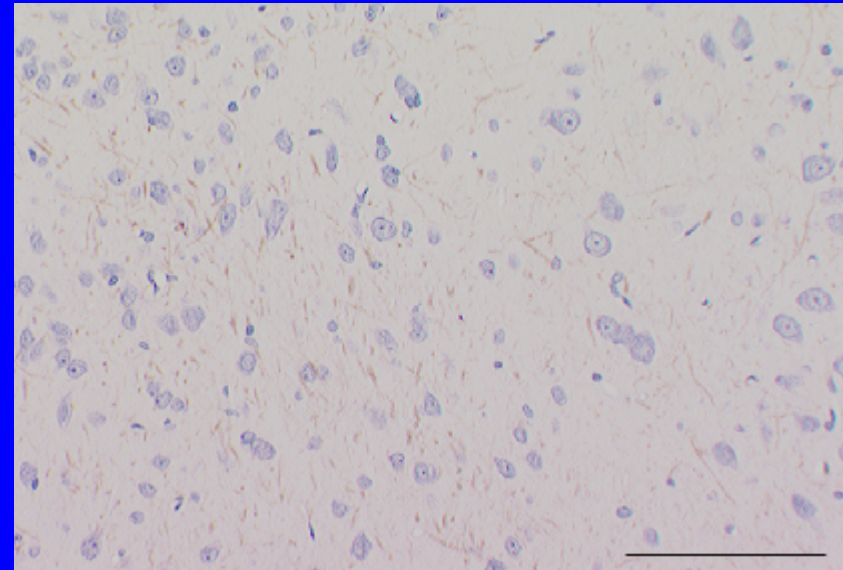
摘出部位との境界に、組織障害によるグルタミン酸毒性を抑えるためにGLAST陽性グリア前駆細胞が発現します。

嗅球摘出1日目

扁桃体 TH免疫染色



嗅球摘出1日目

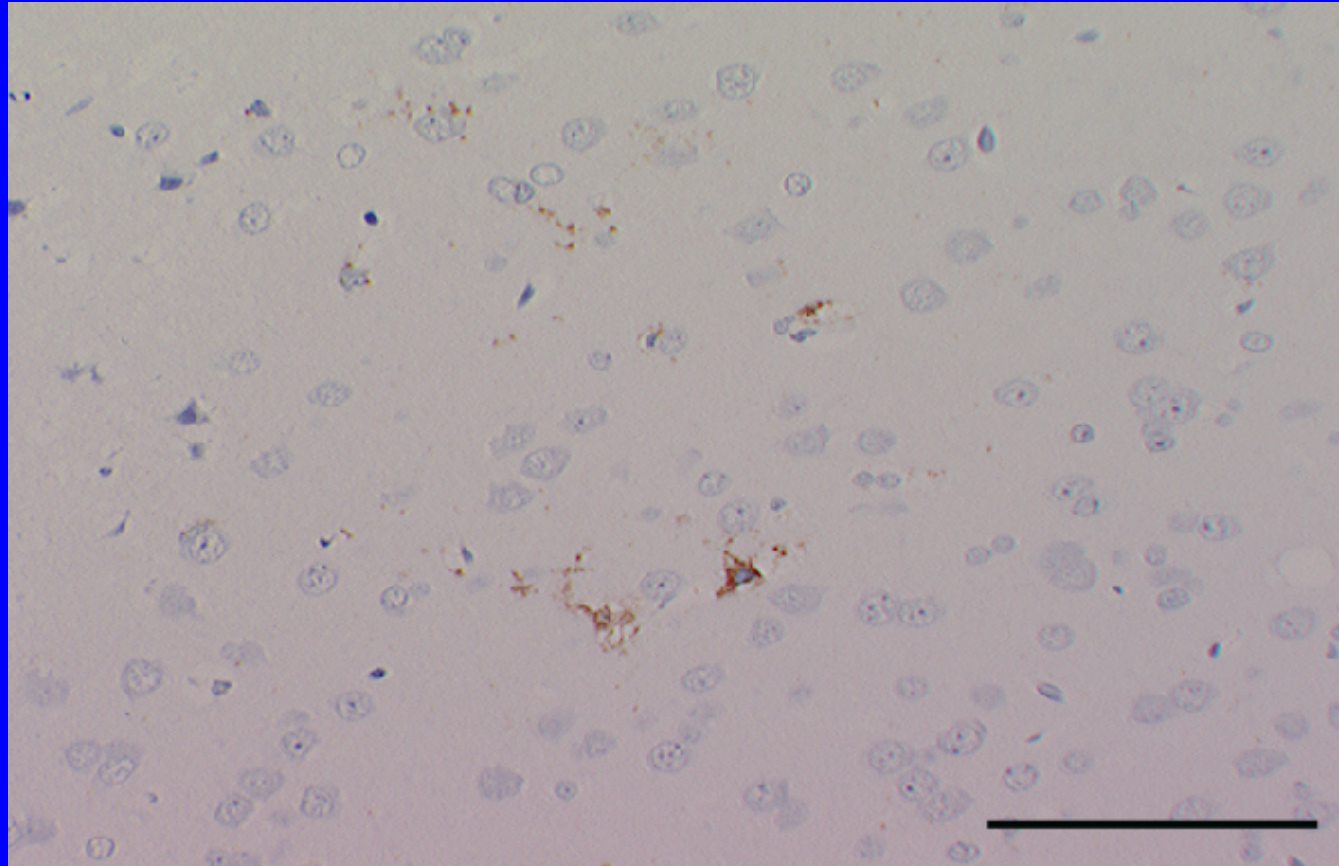


偽手術

嗅球摘出により正常に比べ濃く太い繊維が見られます。

嗅球摘出1日目

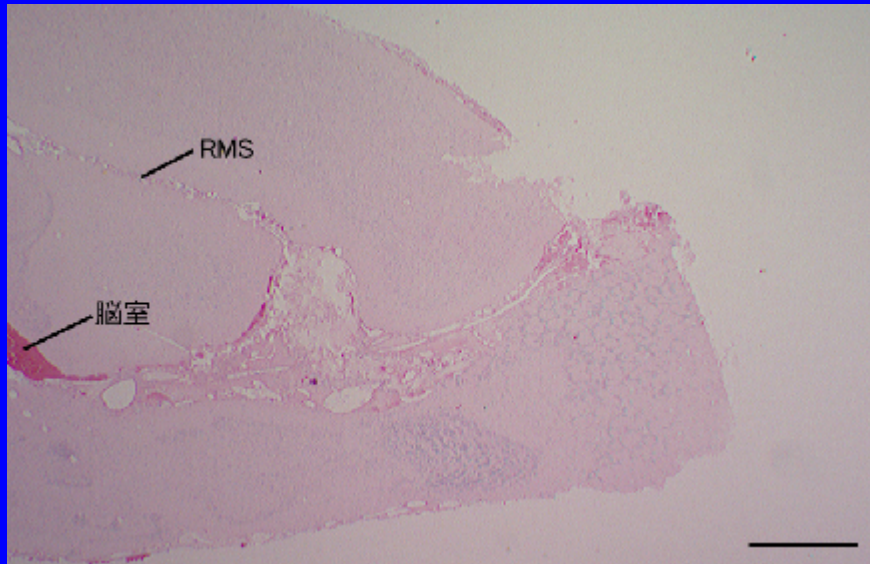
前頭前皮質 CRF-R1/2免疫染色



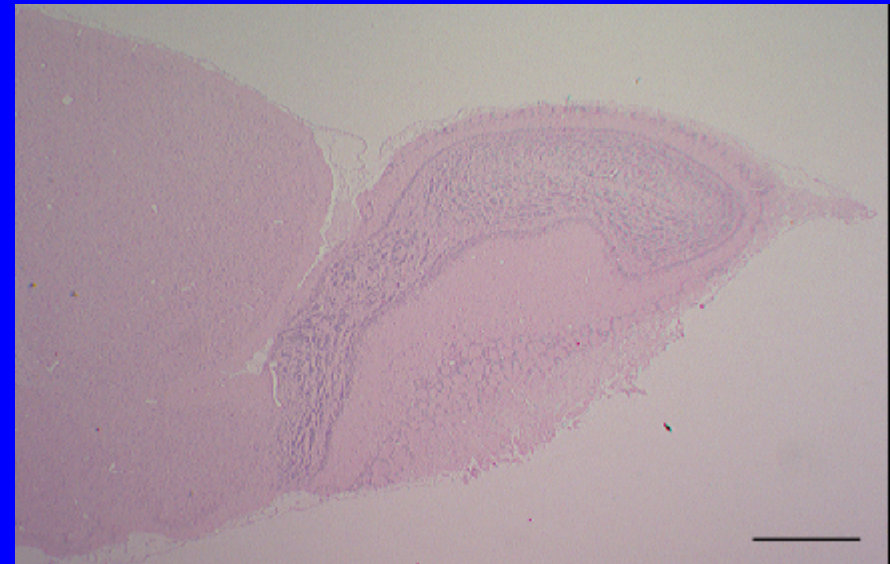
前頭前皮質の組織障害修復のためCRF-R1/2の出現が認められます。

嗅球摘出1日目

嗅球摘出部位 H&E染色



嗅球摘出1日目 摘出失敗例

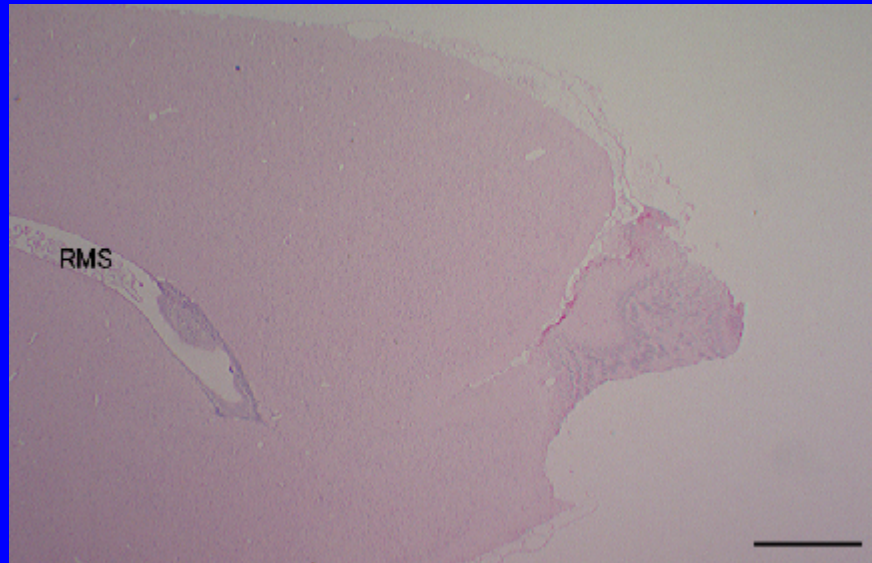


偽手術

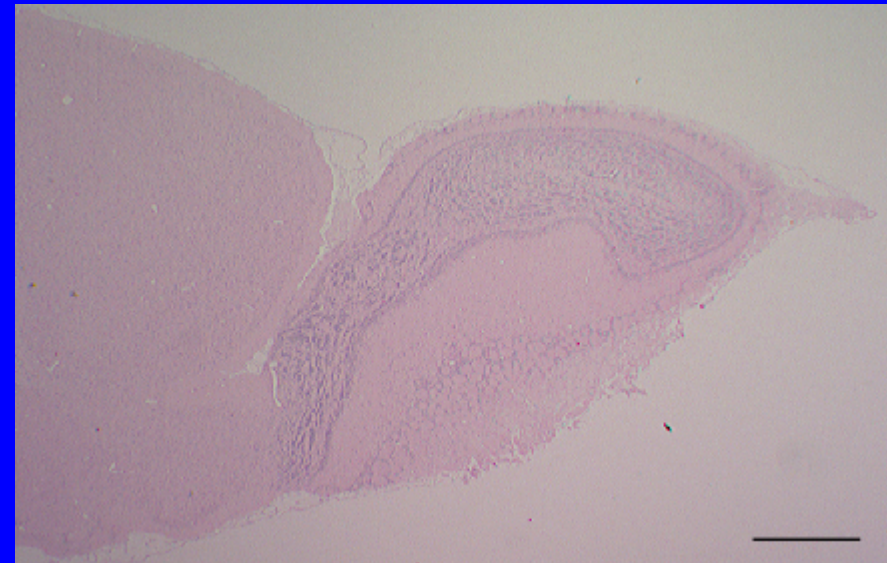
写真の動物では
嗅球の不完全な吸引と、前頭前皮質への強い組織傷害のため別モデル
になっています。
嗅球摘出を失敗した動物では、14日目の情動過多判定基準で20点になり
ません。

嗅球摘出3日目

嗅球摘出部位 H&E染色



嗅球摘出3日目

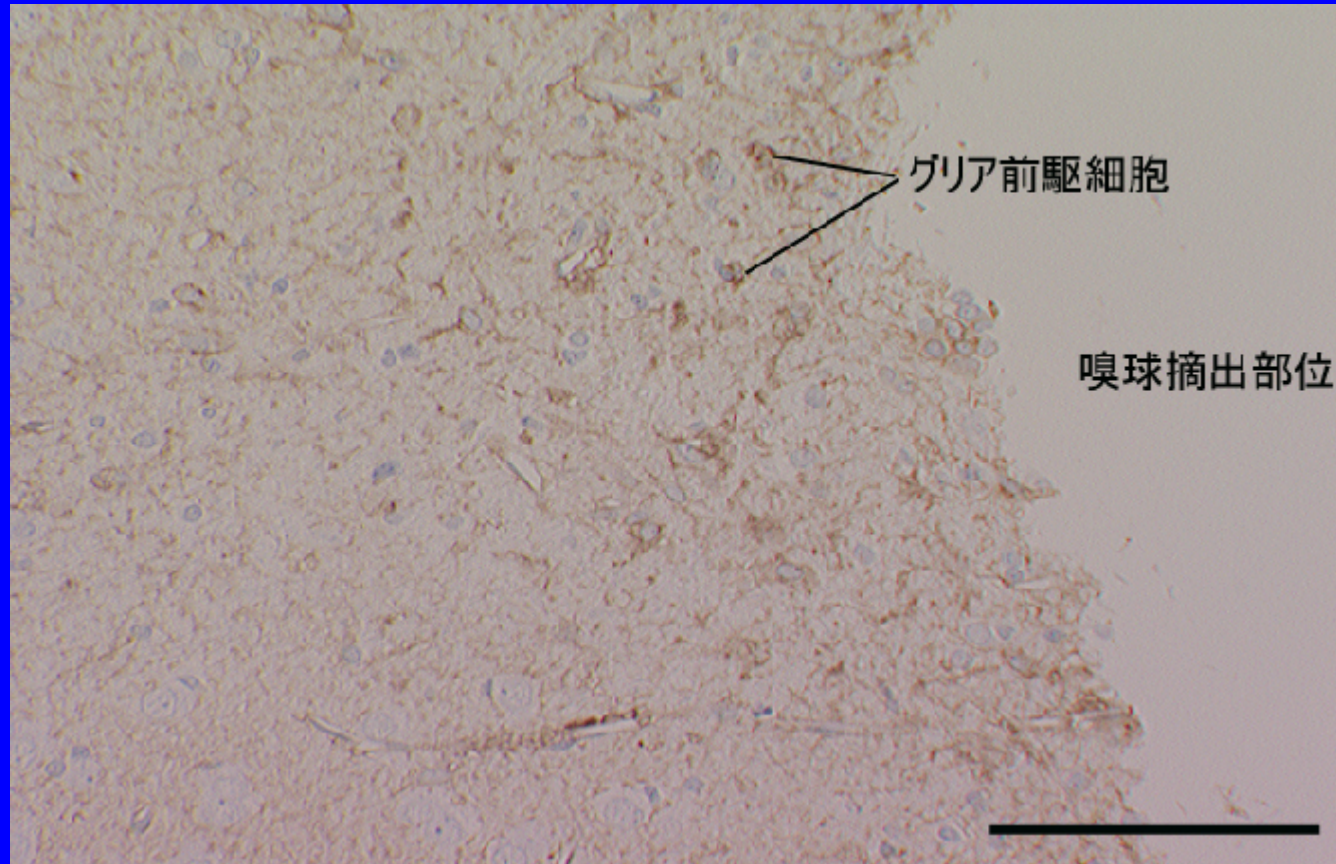


偽手術

前頭前皮質の神経細胞死とそれにともなうグリアの浸潤が認められます。
(少し薄くなっている部分がそれにあたります。)
組織障害部位の修復のため、RMSの拡張がみられ、RMS中に神経・グ
リア前駆細胞が見られます。

嗅球摘出3日目

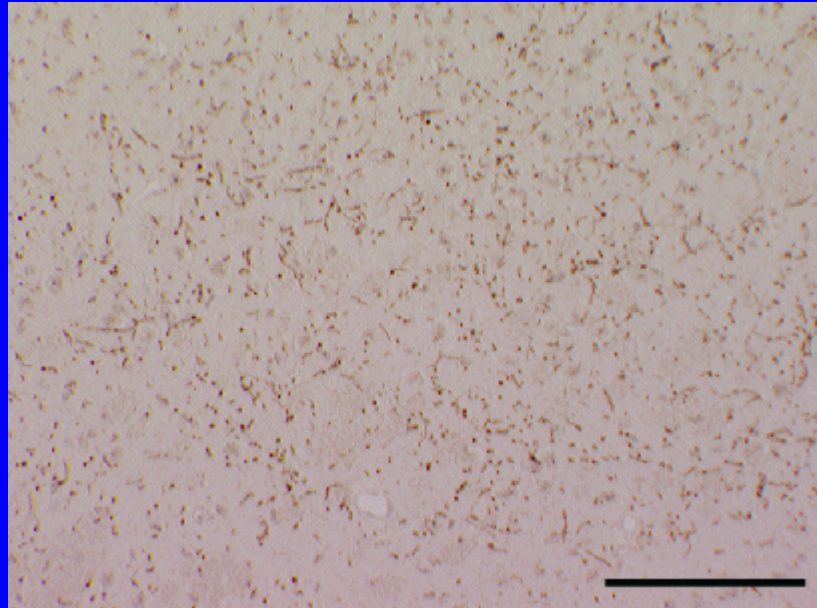
嗅球摘出部位 GLAST免疫染色



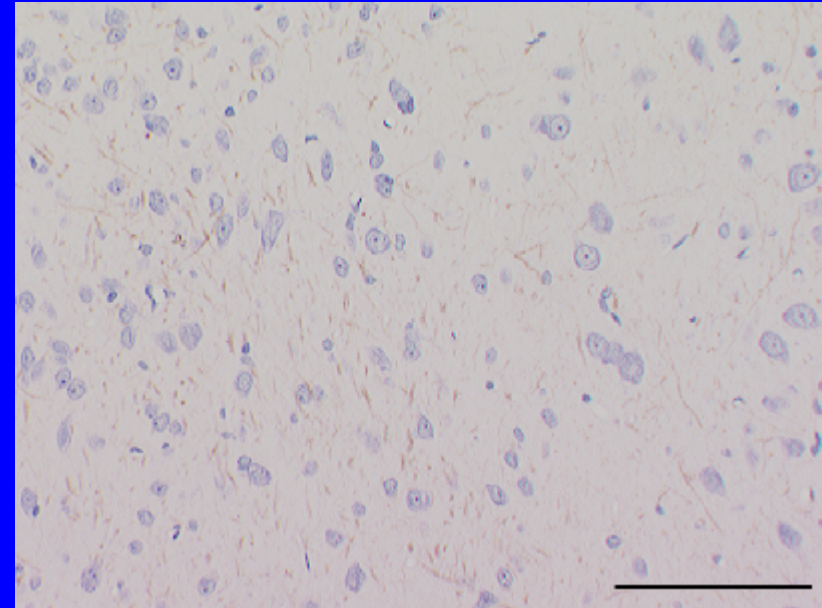
グリア前駆細胞の造成が認められます。

嗅球摘出3日目

扁桃体 TH免疫染色



嗅球摘出3日目

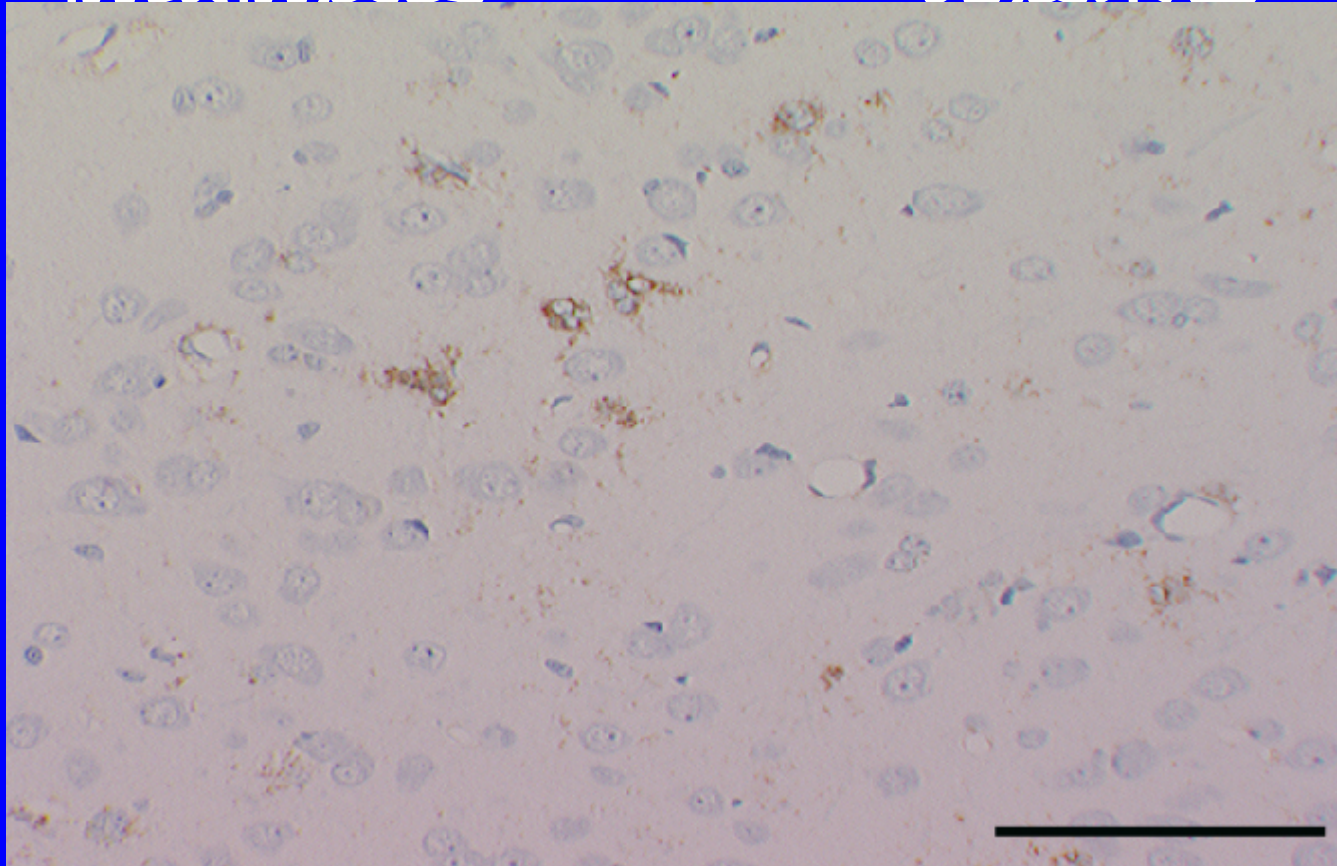


偽手術

摘出1日目と同様に、正常に比べ濃く太い繊維が見られます。

嗅球摘出3日目

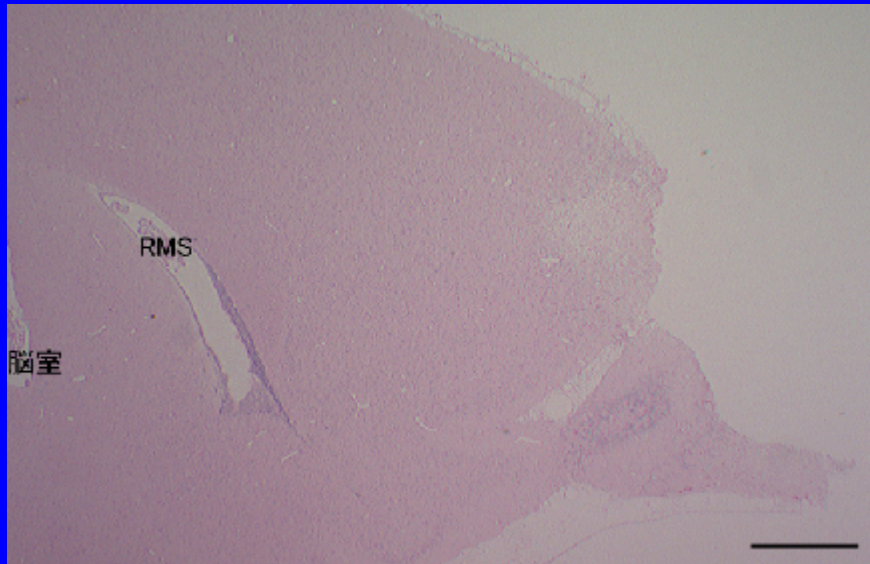
前頭前皮質 CRF-R1/2免疫染色



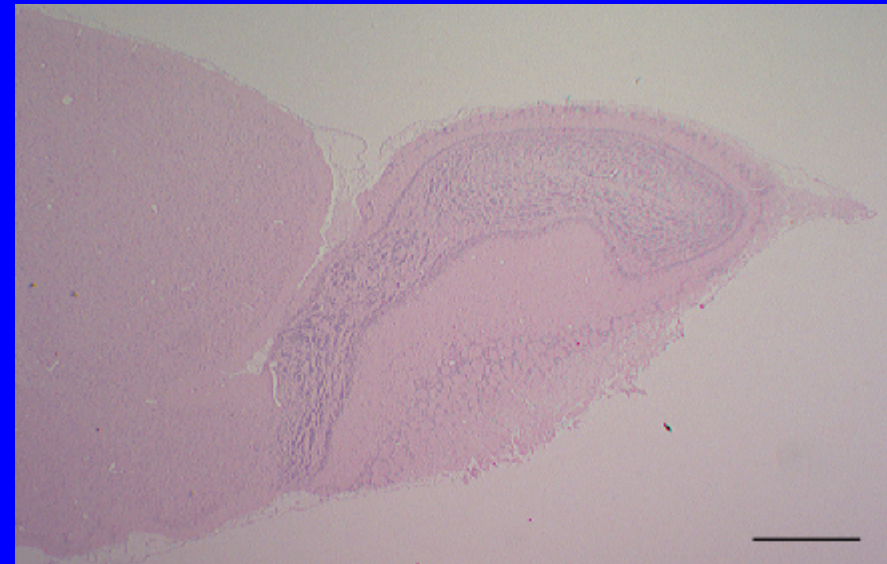
1日目に比べCRF-R1/2の出現がより強く見られます。

嗅球摘出4日目

嗅球摘出部位 H&E染色



嗅球摘出4日目

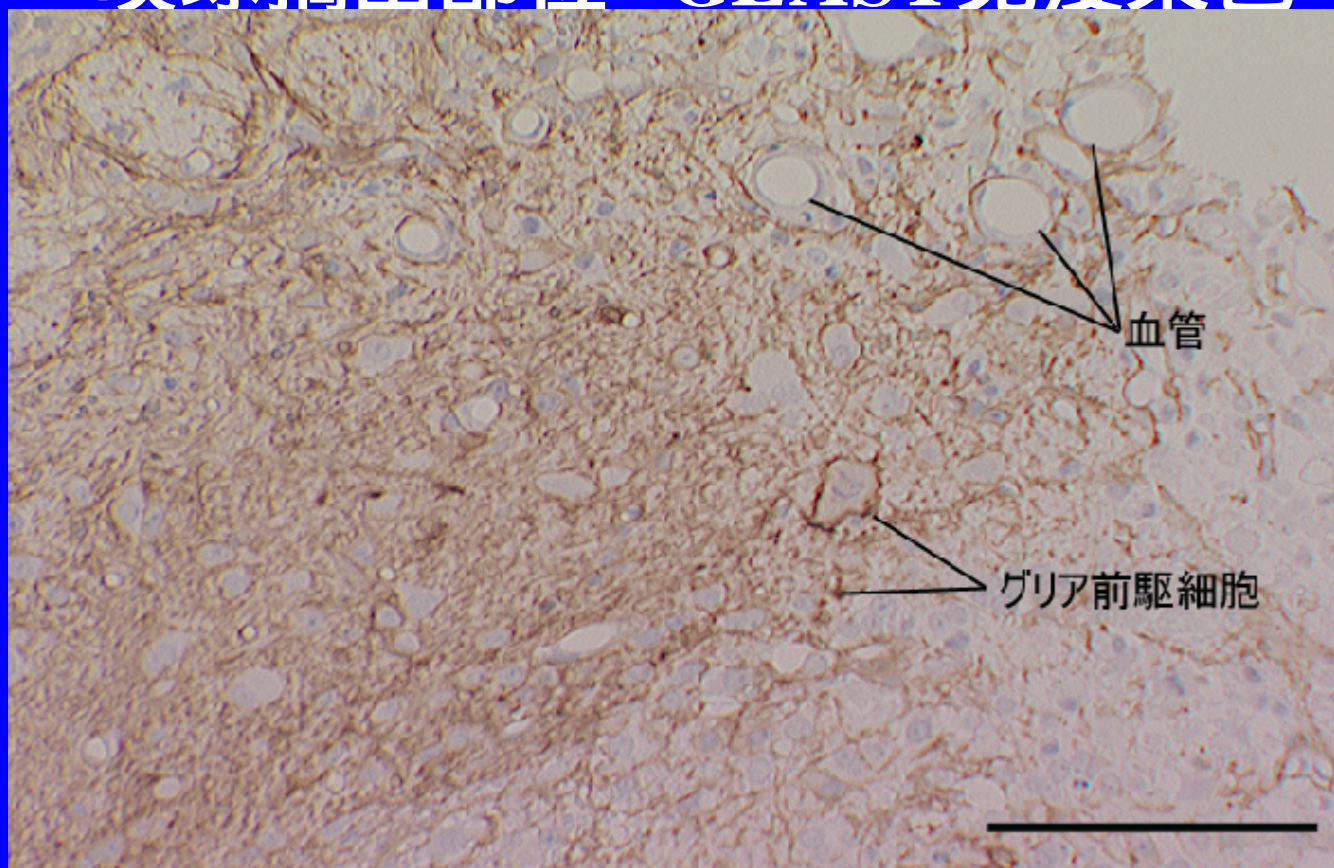


偽手術群

前頭前皮質の神経細胞死とそれにともなうグリアの浸潤が認められます。
(少し薄くなっている部分がそれにあたります。)
組織障害部位の修復のため、RMS・脳室の拡張、RMS中に神経・グリア
前駆細胞が見られます。

嗅球摘出4日目

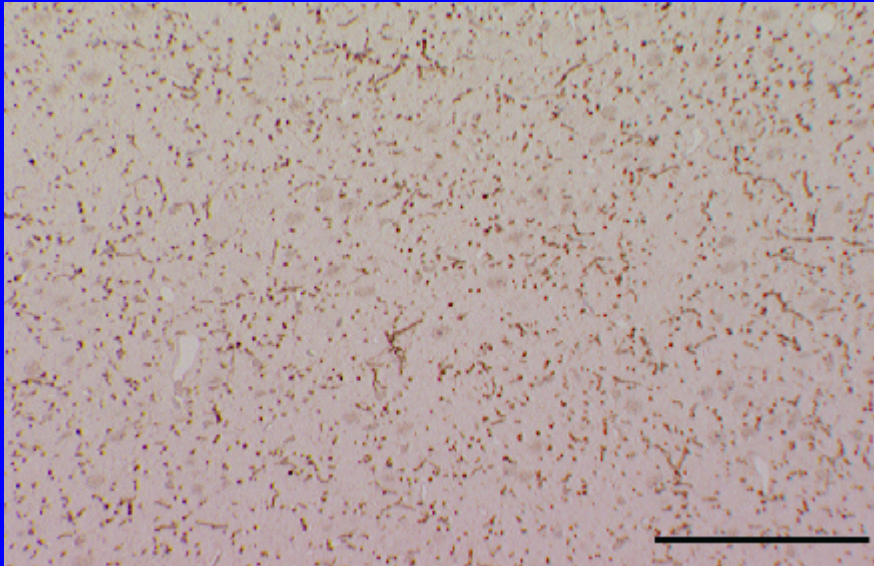
嗅球摘出部位 GLAST免疫染色



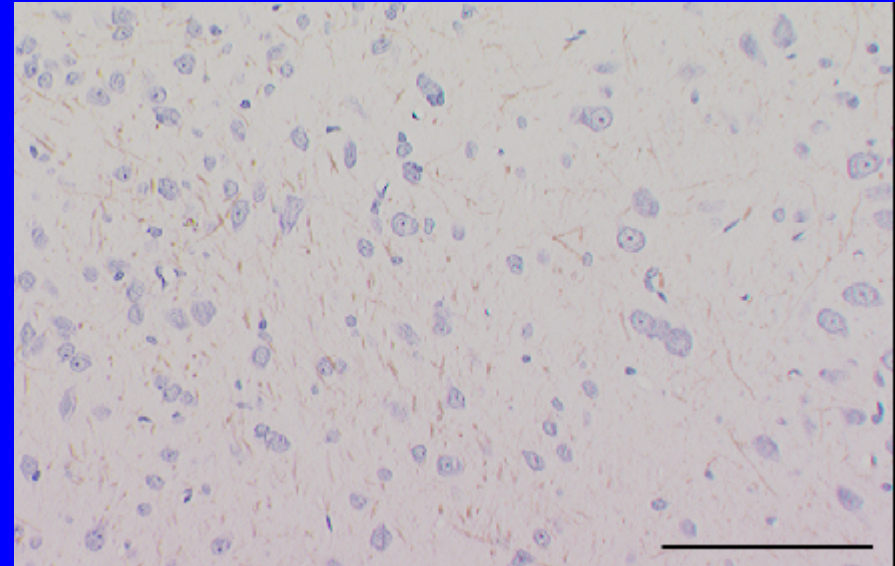
グリア前駆細胞の造成、血管新生が見られ、肉芽を形成している事がわかります。

嗅球摘出4日目

扁桃体 TH免疫染色



嗅球摘出4日目

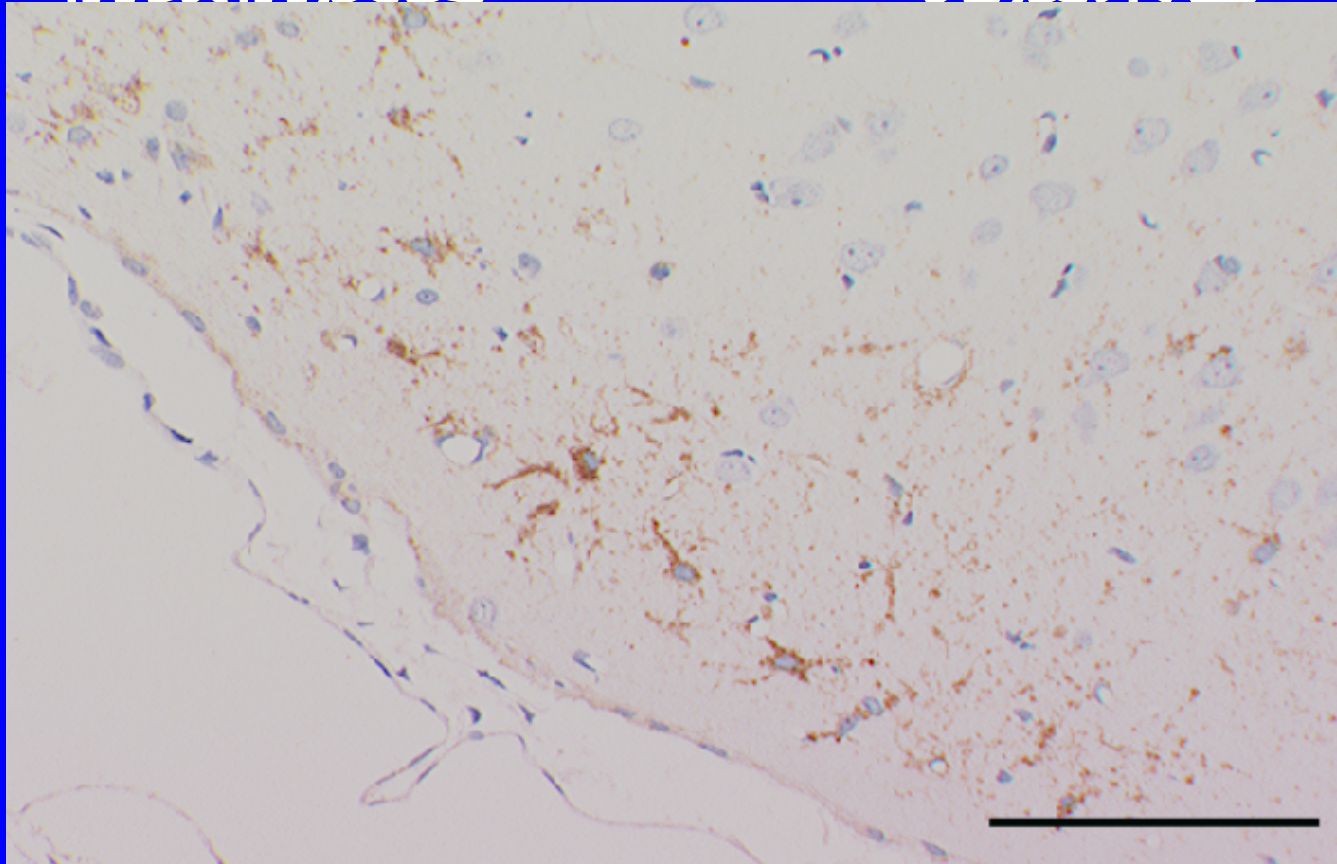


偽手術

正常に比べ濃く太い繊維が見られます。

嗅球摘出4日目

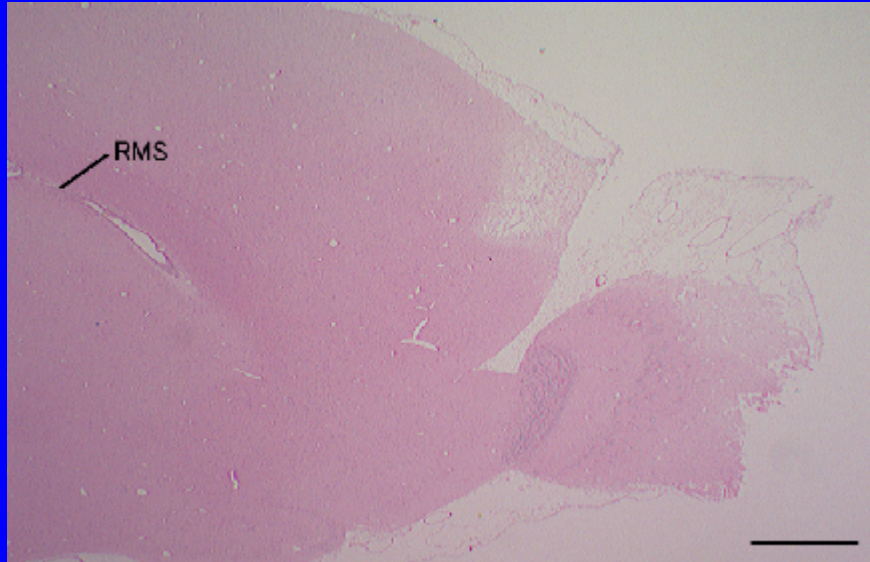
前頭前皮質 CRF-R1/2免疫染色



1、3日目に比べCRF-R1/2の出現がより強く見られます。
今回観察した中では4日目がCRF-R1/2のピークだと思われる。

嗅球摘出7日目

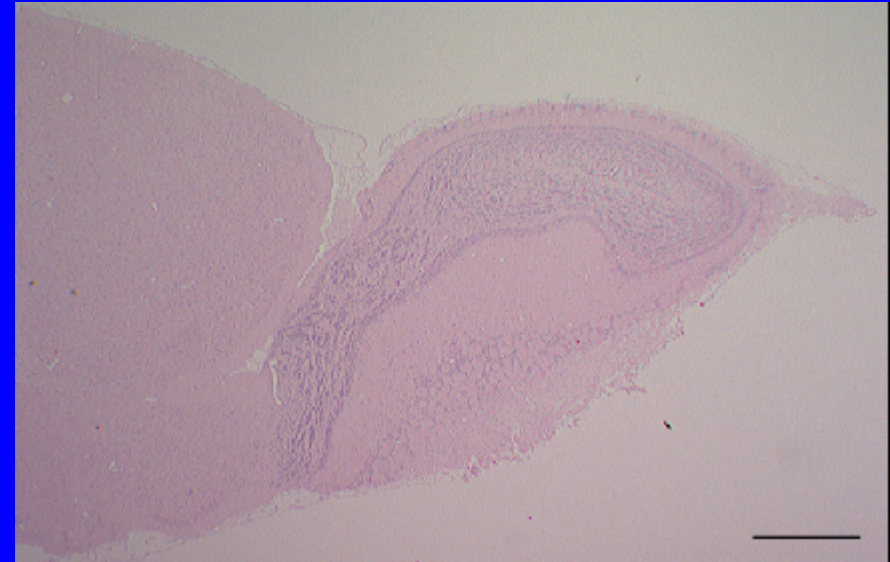
嗅球摘出部位 H&E染色



嗅球摘出7日目

前頭前皮質が修復されてきています。(少し薄くなっている部分がそれにあたります。)

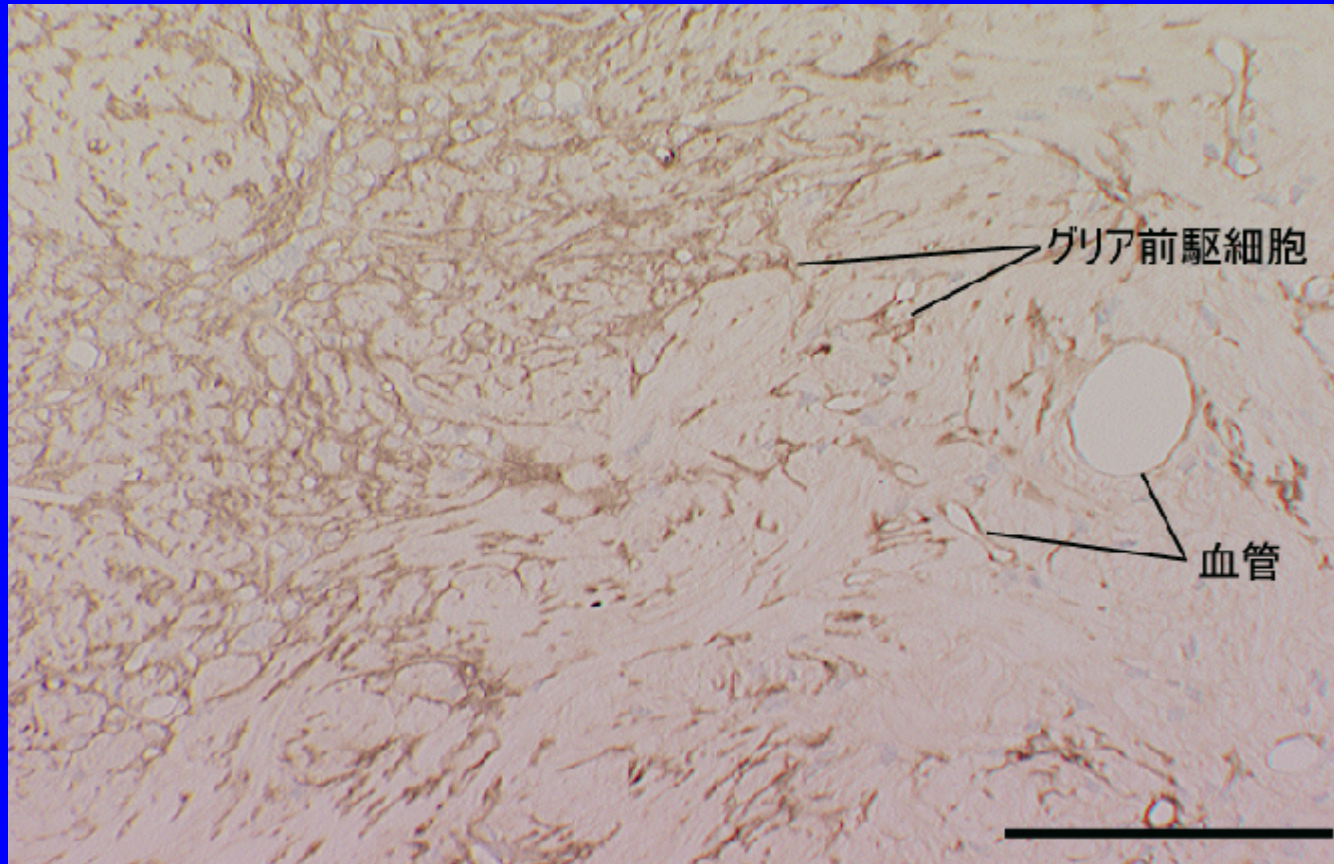
組織障害部位の修復のため、RMSの拡張、RMS中に神経・グリア前駆細胞が見られます。



偽手術

嗅球摘出7日目

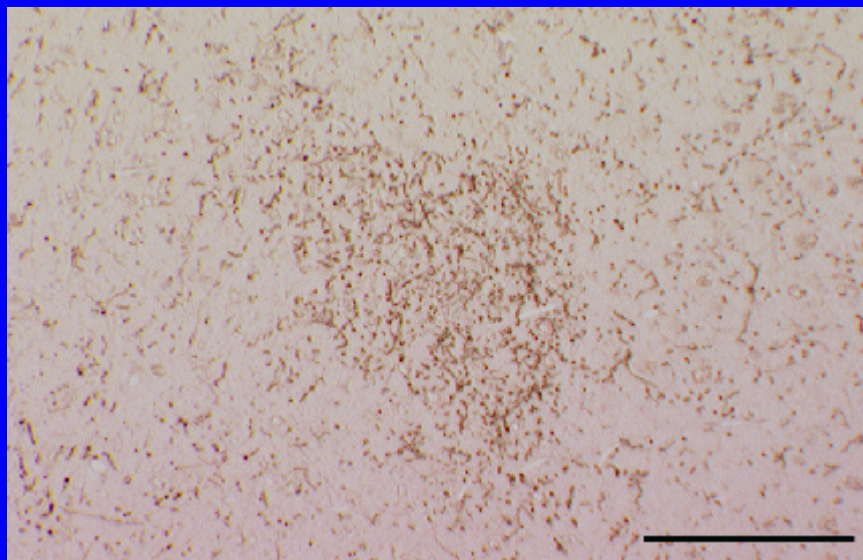
嗅球摘出部位 GLAST免疫染色



グリア前駆細胞の造成、血管新生が見られ、肉芽を形成している事がわかります。

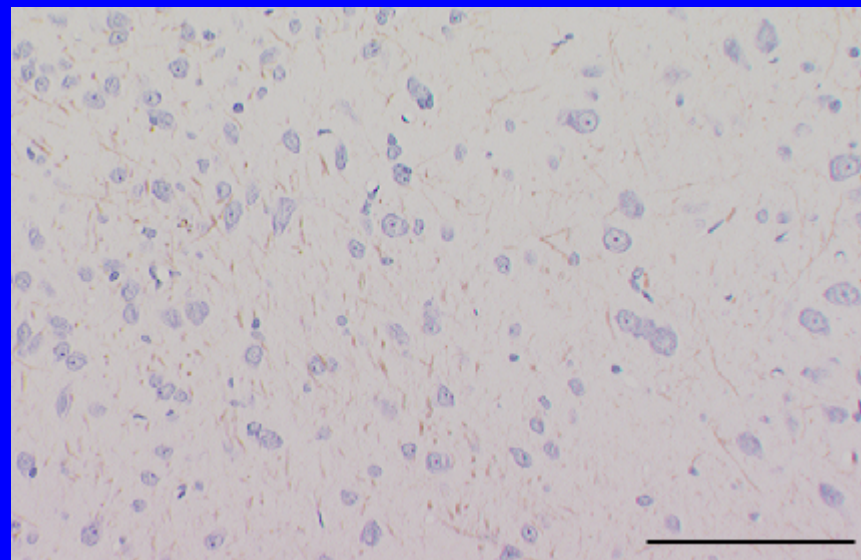
嗅球摘出7日目

扁桃体 TH免疫染色



嗅球摘出4日目

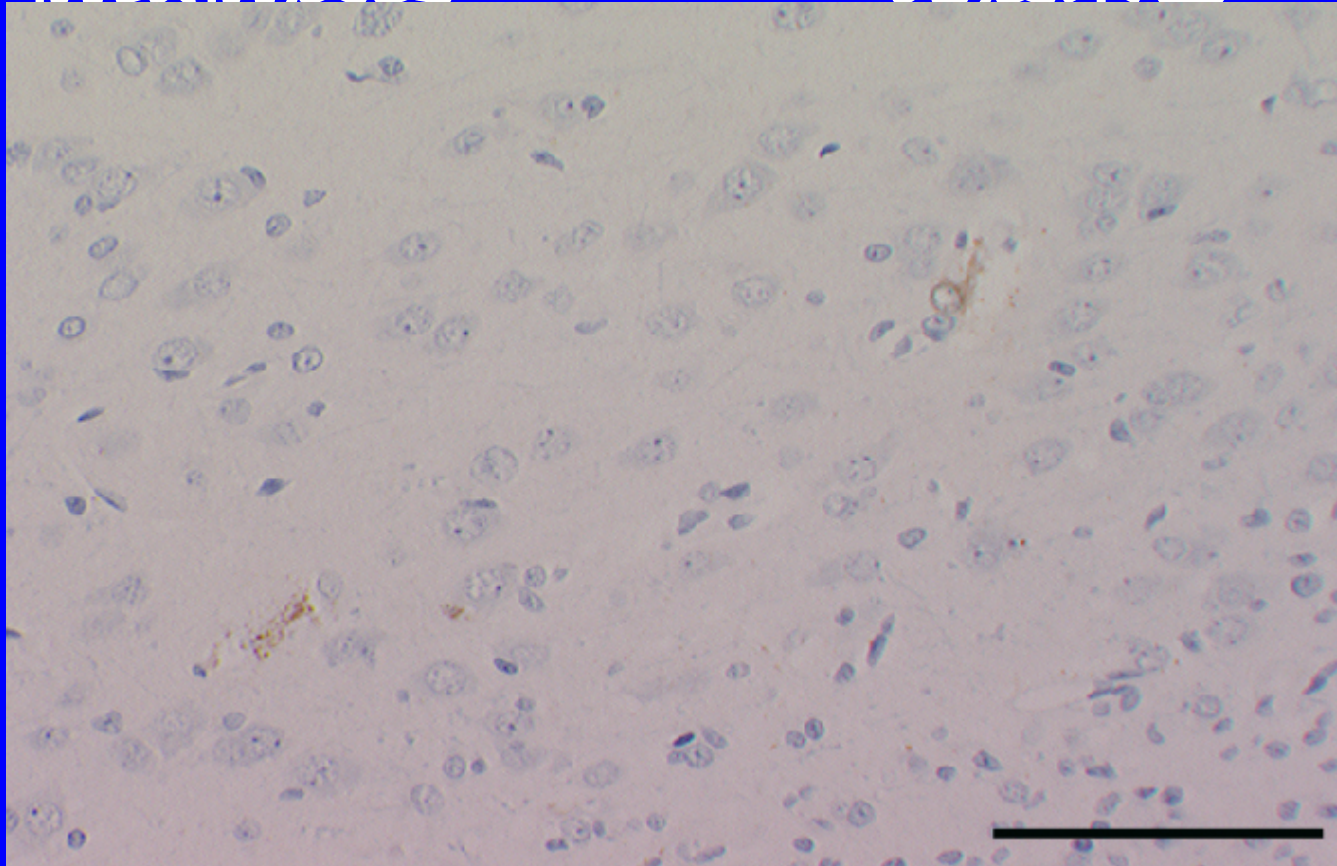
正常に比べ濃く太い繊維が見られます。



偽手術

嗅球摘出7日目

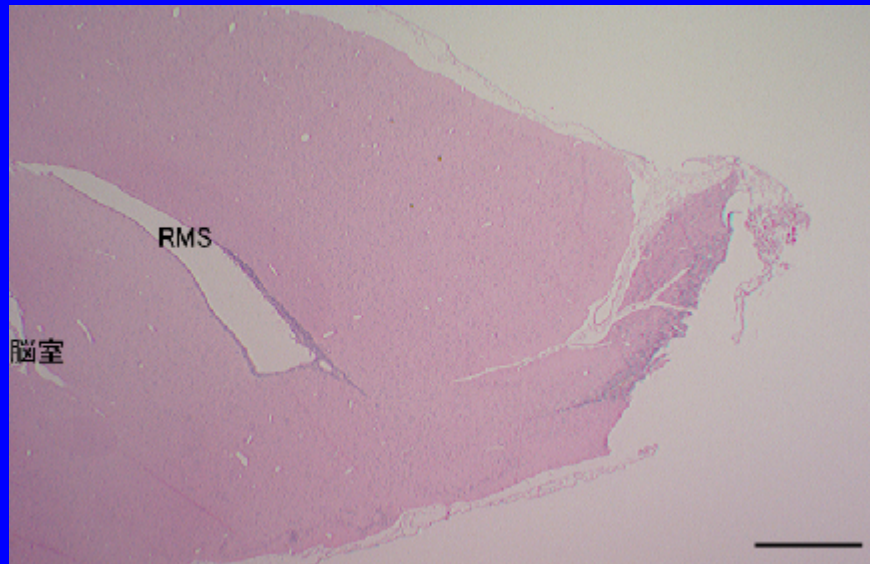
前頭前皮質 CRF-R1/2免疫染色



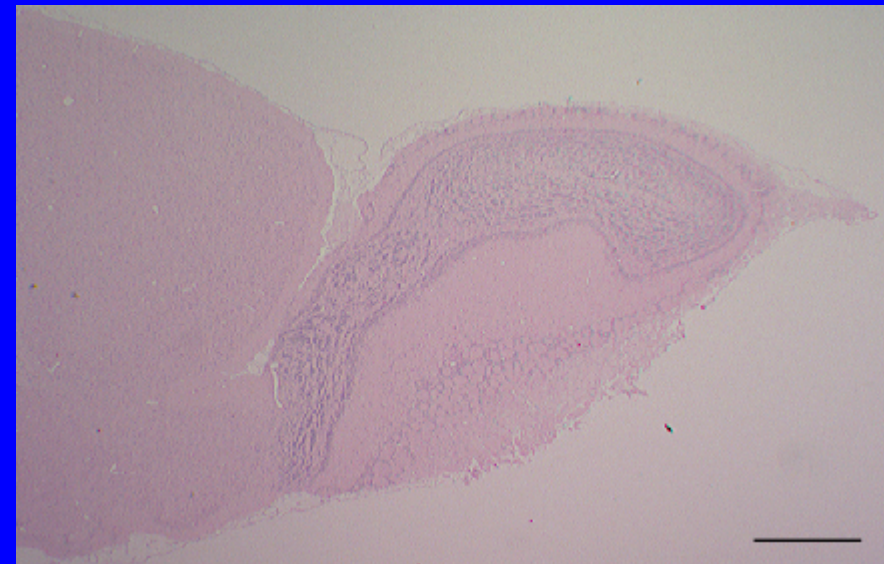
前頭前皮質が修復してきているため3,4日目より減少しますが、CRF-R1/2が見られます。

嗅球摘出14日目

嗅球摘出部位 H&E染色



嗅球摘出14日目



偽手術

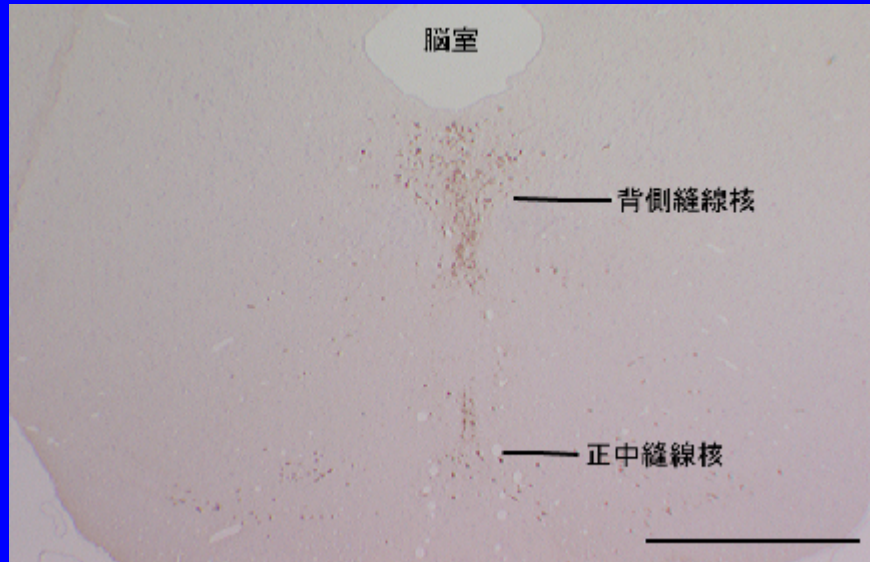
14日以後は情動過多判定基準によって、スコアが20点を示した動物を用いています。

梨状皮質の神経細胞壊死、扁桃体のTHの活性はまだ認められます。

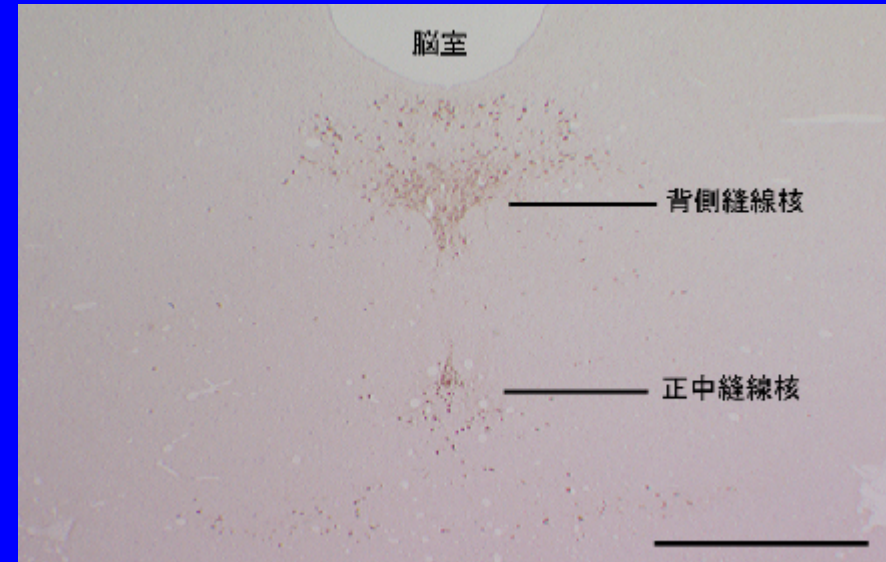
前頭前皮質は修復されています。RMS,脳室の拡張がみられます。

嗅球摘出14日目

縫線核 TPH免疫染色



嗅球摘出14日目

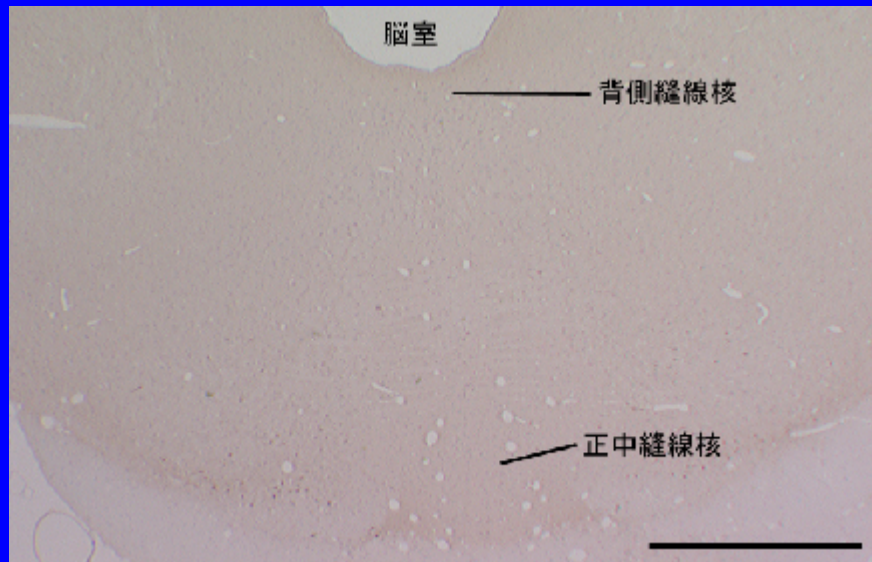


偽手術

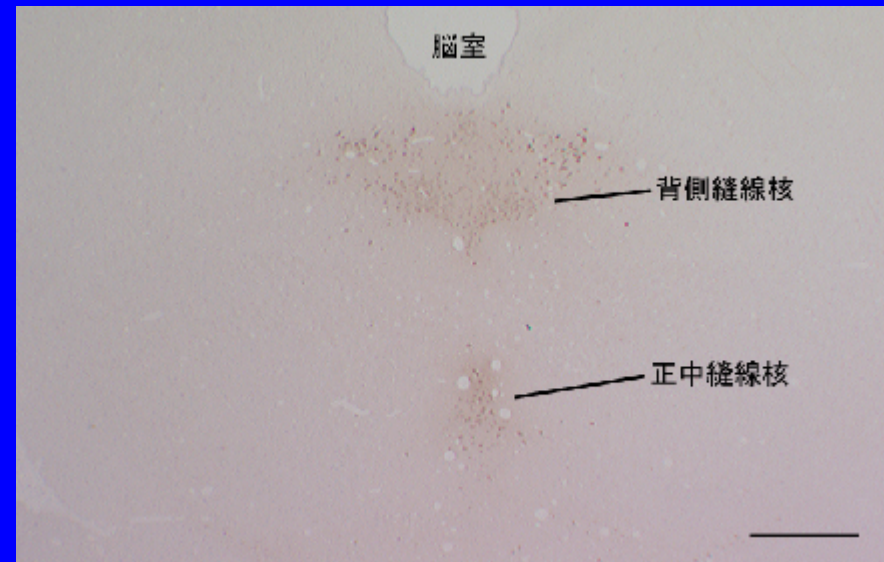
偽手術群に比べ縫線核のTPH陽性細胞が減少しています。

嗅球摘出14日目

縫線核 セロトニン免疫染色



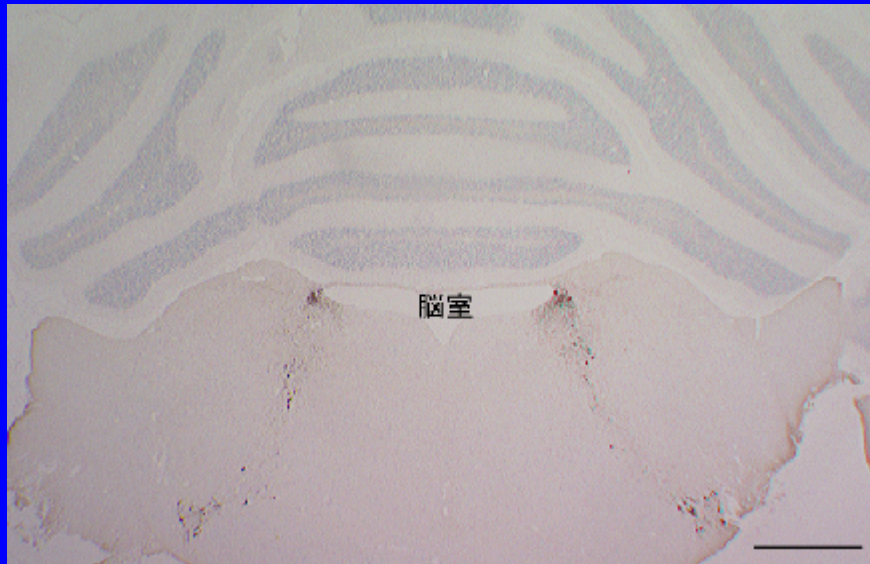
嗅球摘出14日目



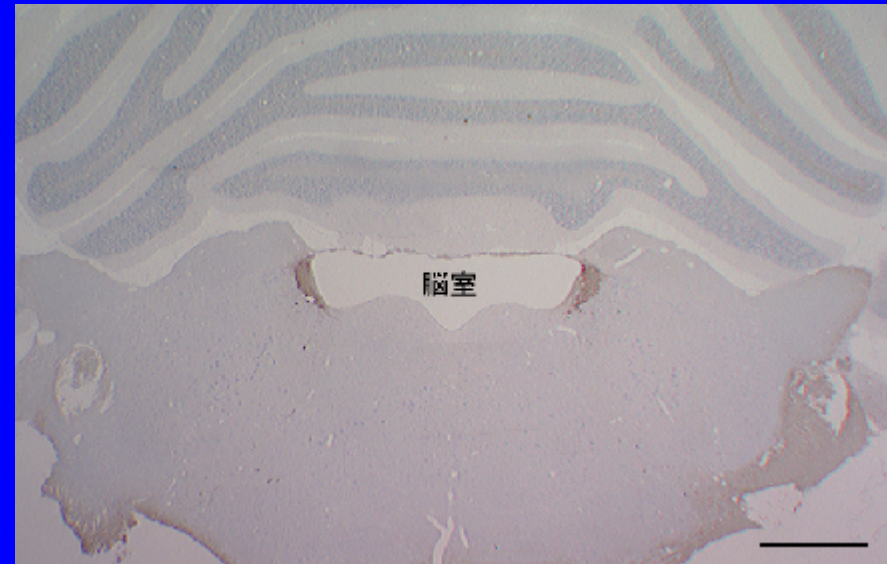
偽手術

偽手術群に比べ縫線核のセロトニン陽性細胞がわずかにみられます。

嗅球摘出14日目 青斑核 TH免疫染色



嗅球摘出14日目

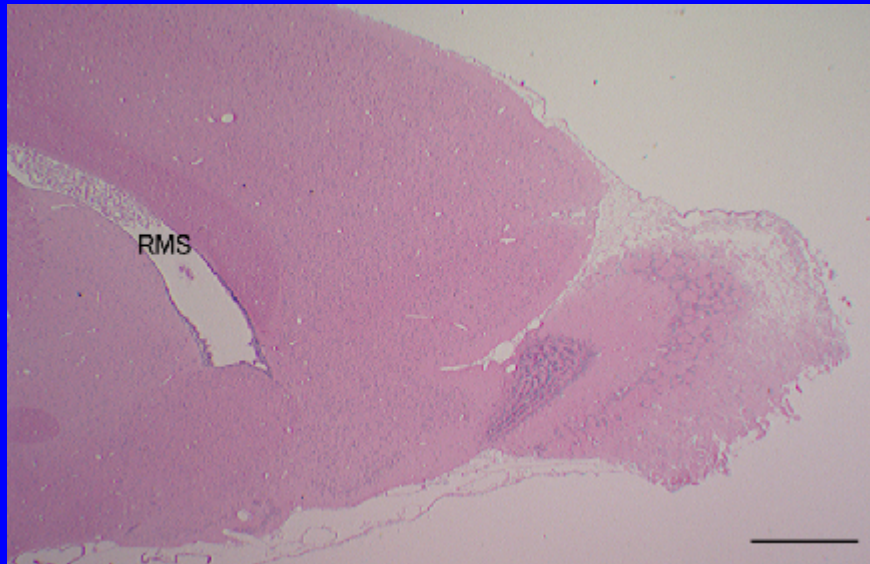


偽手術

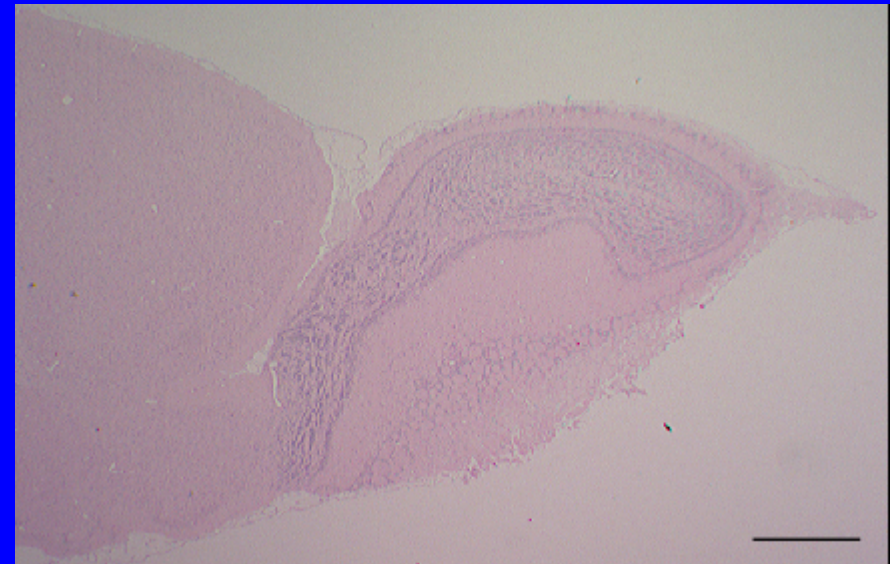
偽手術群に比べ青斑核のTH陽性細胞が減少しています。

嗅球摘出21日目

嗅球摘出部位 H&E染色



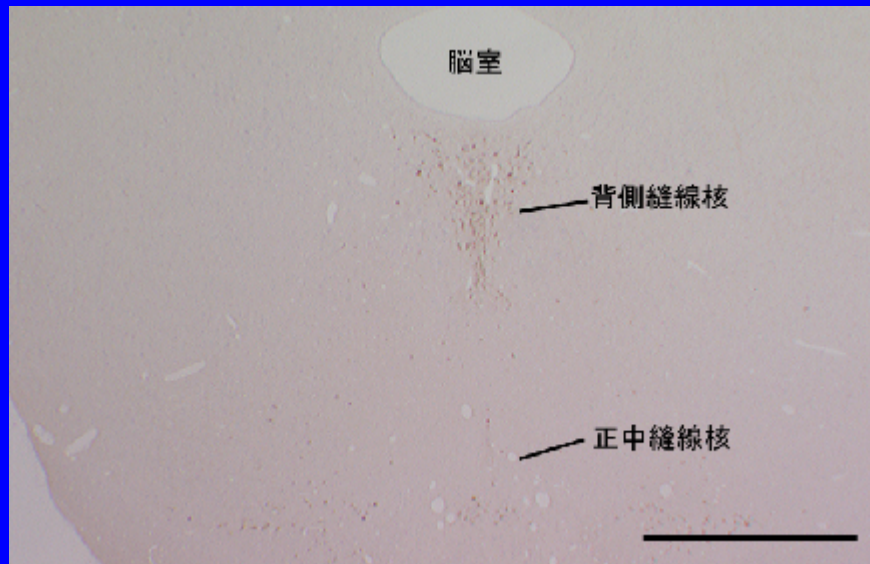
嗅球摘出21日目



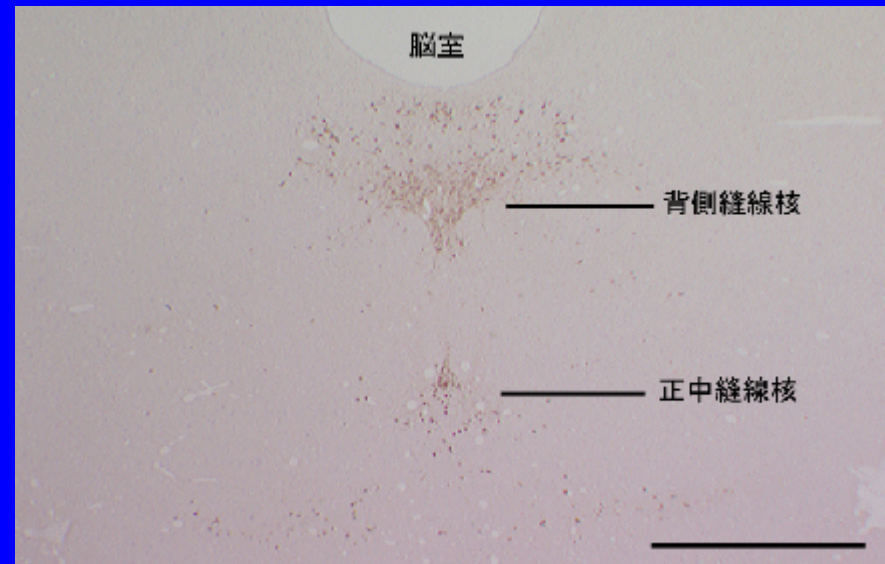
偽手術

前頭前皮質は修復されています。RMSの拡張がみられます。

嗅球摘出21日目 縫線核 TPH免疫染色



嗅球摘出21日目

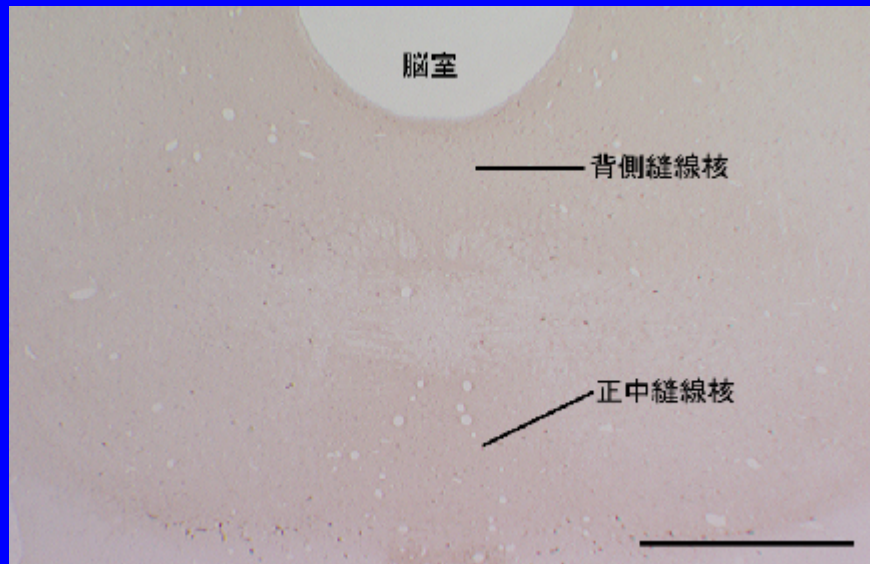


偽手術

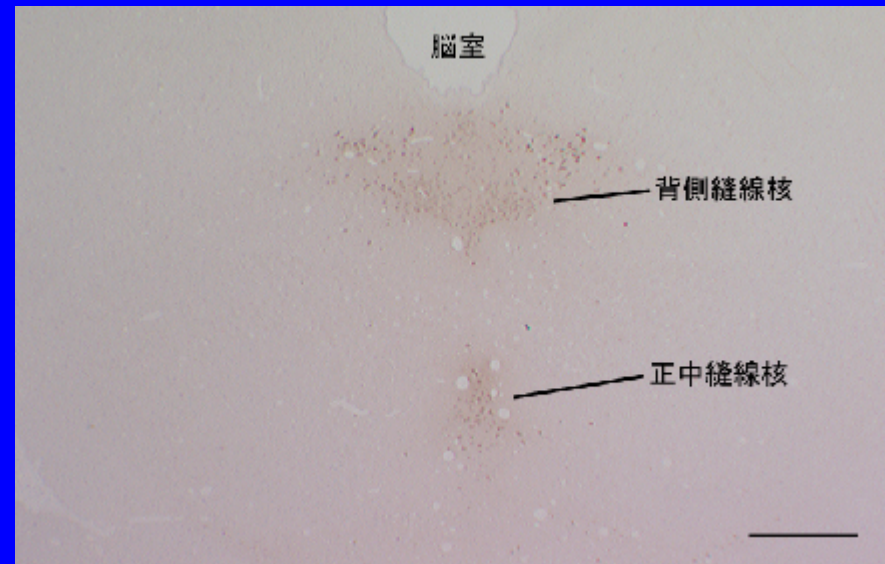
偽手術群に比べ縫線核のTPH陽性細胞が減少しています

嗅球摘出21日目

縫線核 セロトニン免疫染色



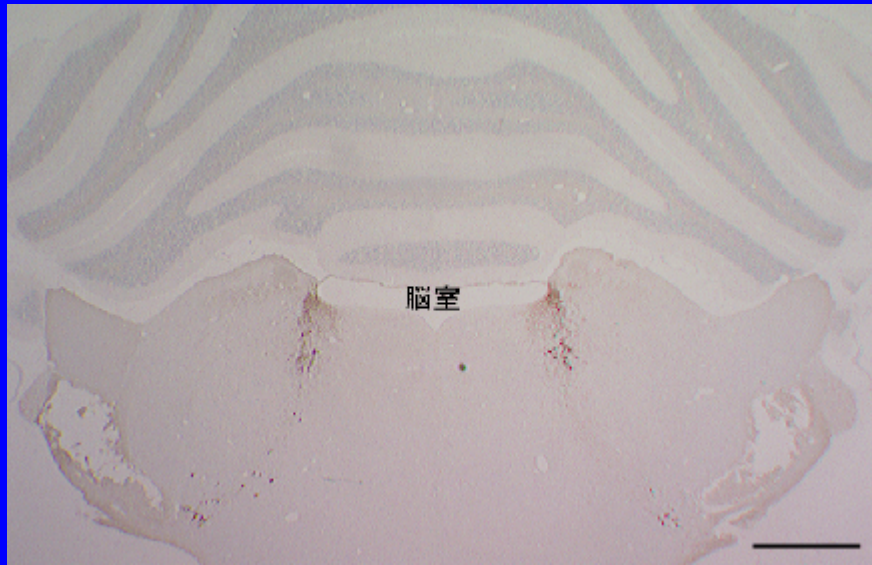
嗅球摘出21日目



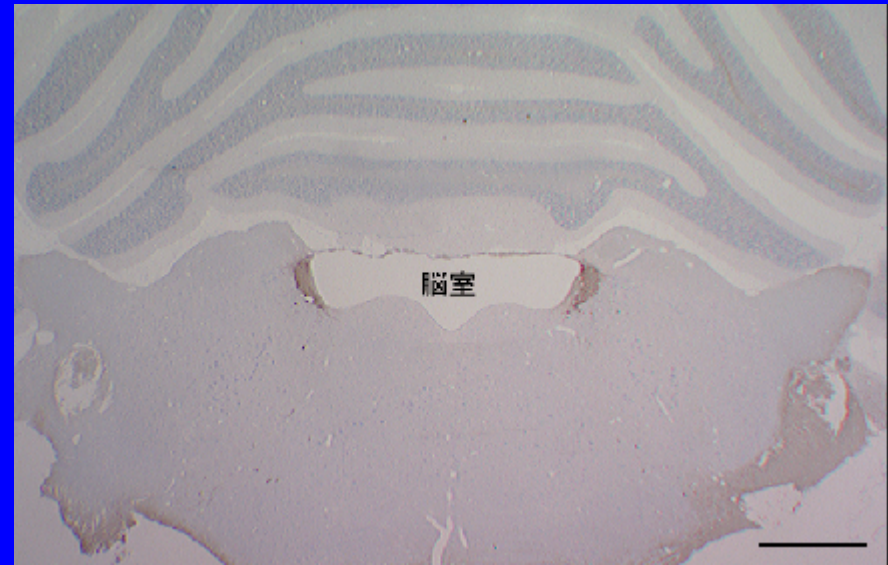
偽手術

偽手術群に比べ縫線核のセロトニン陽性細胞がわずかにみられます。

嗅球摘出21日目 青斑核 TH免疫染色



嗅球摘出21日目



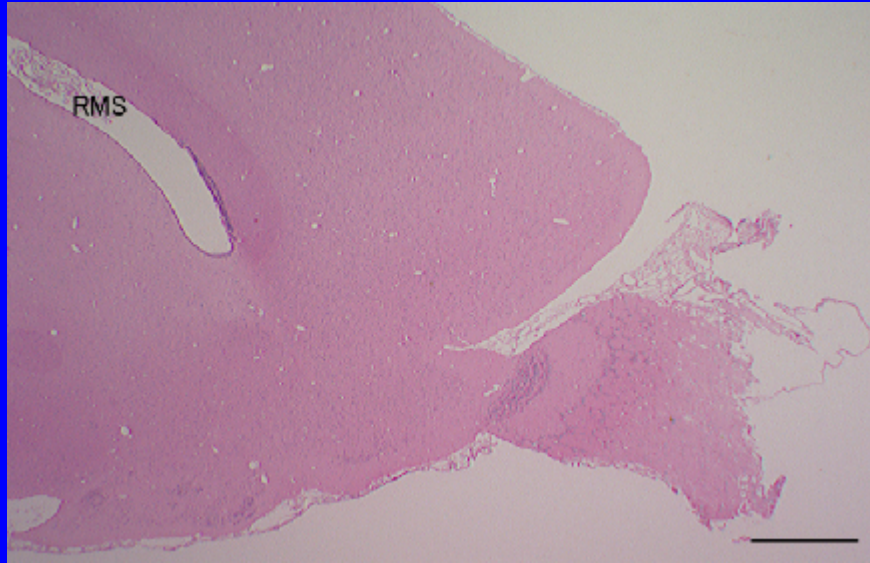
偽手術

偽手術群に比べ青斑核のTH陽性細胞が減少しています

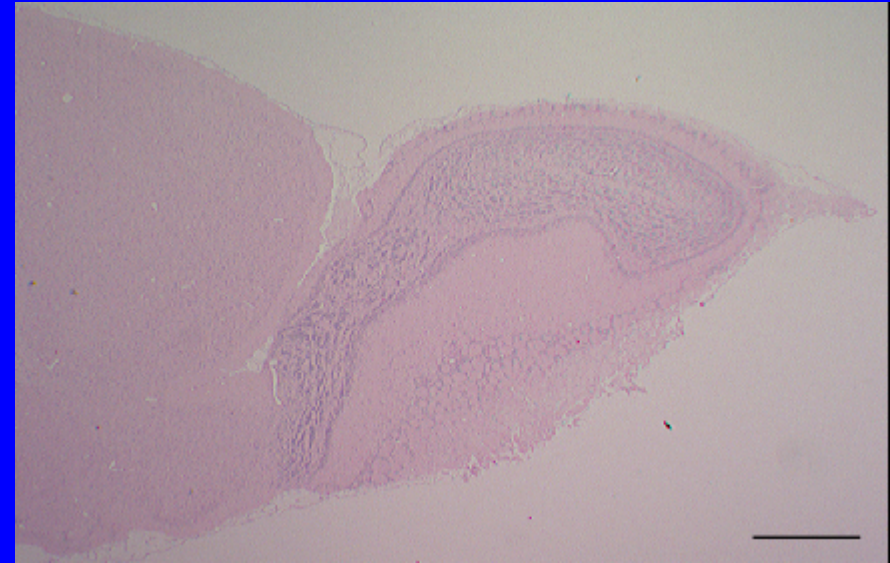
21日目は14日目と同様の状態を保っていることがわかります。

嗅球摘出21日目 投薬群

嗅球摘出部位 HE染色



嗅球摘出21日目 デシプラミン投与

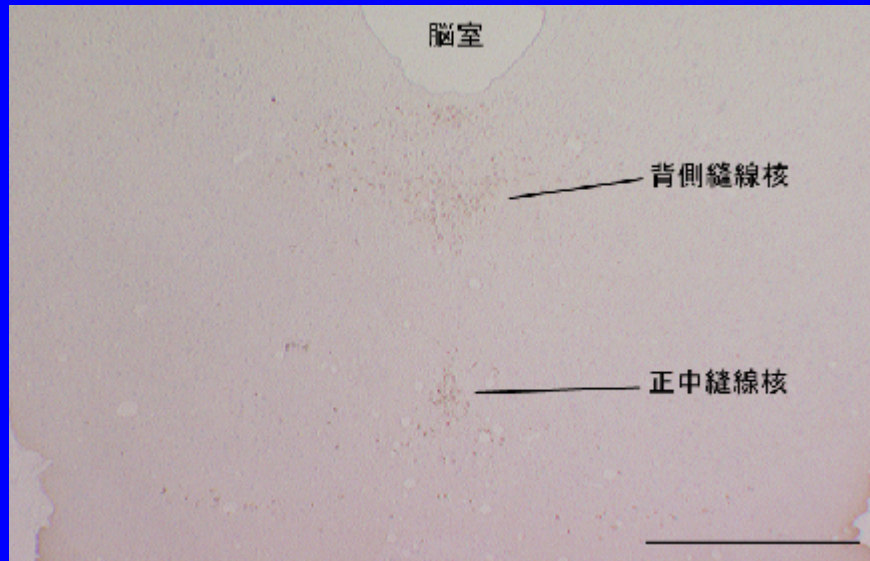


偽手術

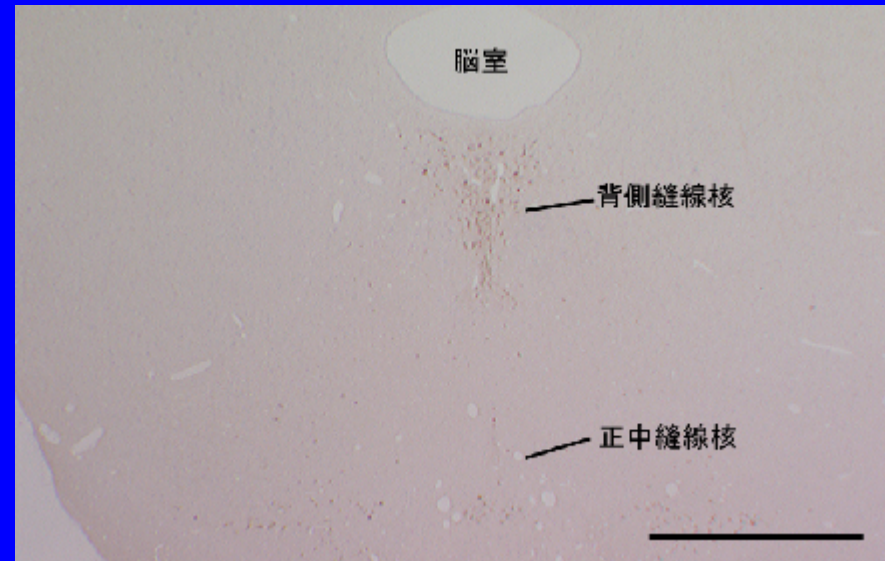
嗅球摘出14日目、情動過多判定基準によって20点を示した動物にミルナシプラン(3mg/kg)、フルボキサミン(30mg/kg)、デシプラミン(10mg/kg)を1週間連続投与しました。

前頭前皮質は修復されています。RMSの拡張がみられます。

嗅球摘出21日目 ミルナシプラン投与 縫線核 TPH免疫染色



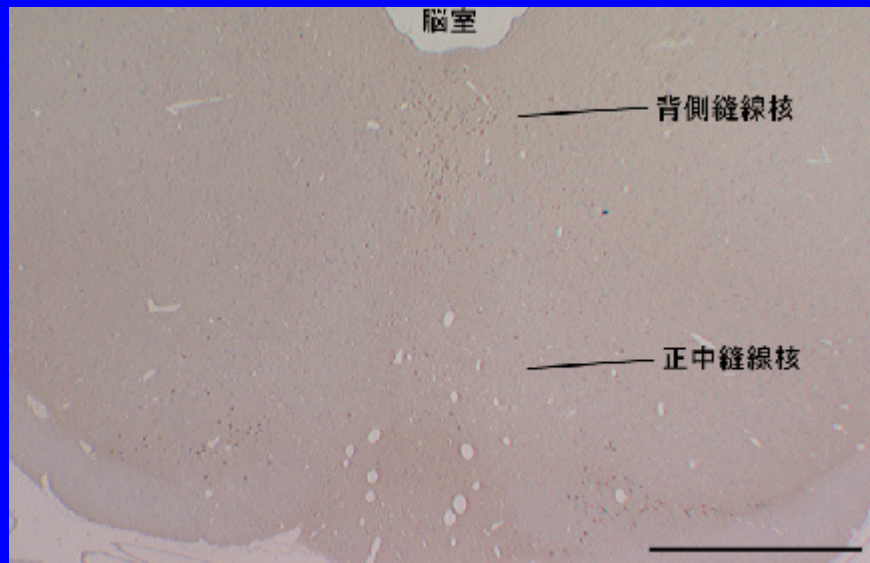
嗅球摘出21日目 ミルナシプラン投与



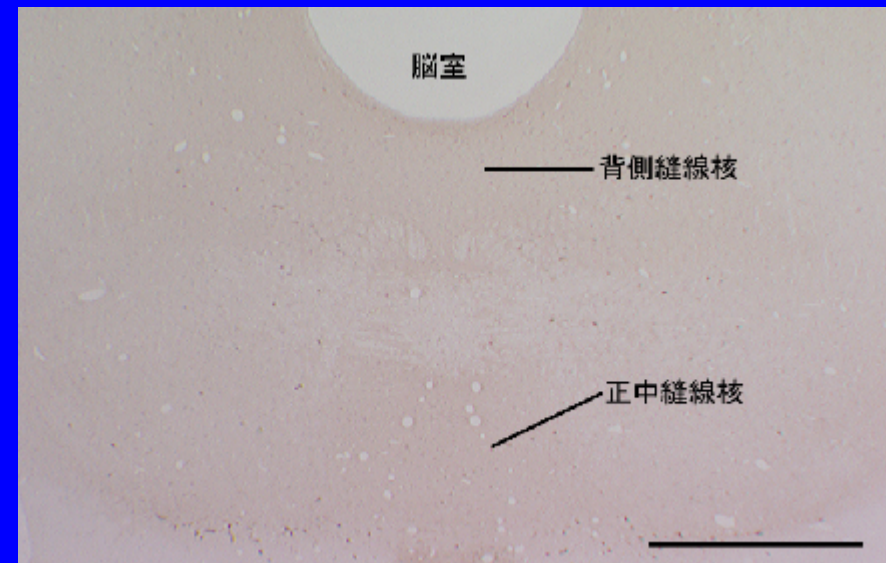
嗅球摘出21日目 媒体投与

ミルナシプラン投与により縫線核のTPH陽性細胞が増加しています。

嗅球摘出21日目 ミルナシプラン投与 縫線核 セロトニン免疫染色



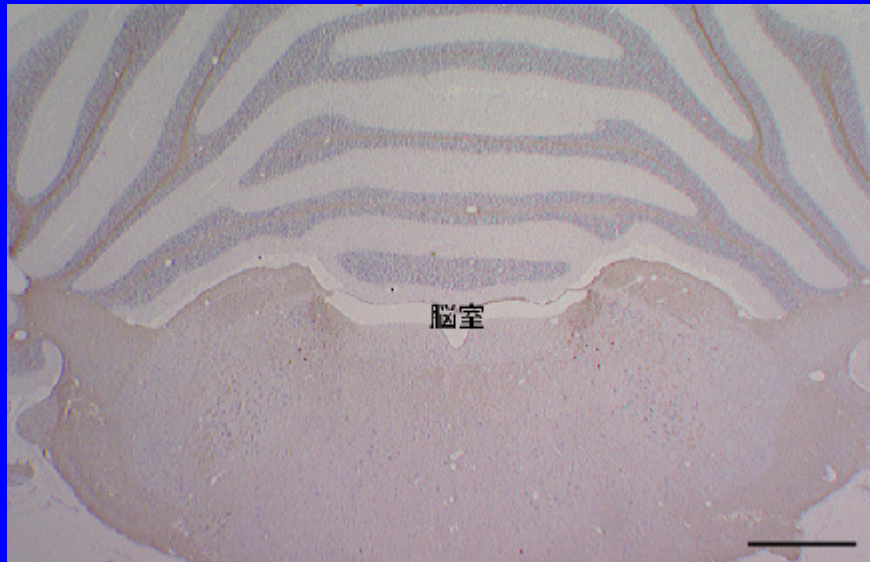
嗅球摘出21日目 ミルナシプラン投与



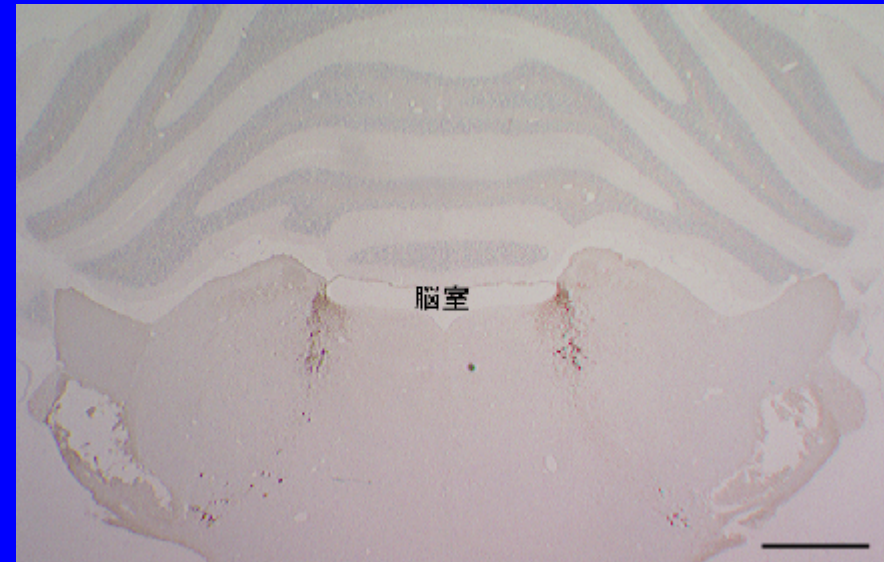
嗅球摘出21日目 媒体投与

ミルナシプラン投与により縫線核のセロトニン陽性細胞が増加しています。

嗅球摘出21日目 ミルナシプラン投与 青斑核 TH免疫染色



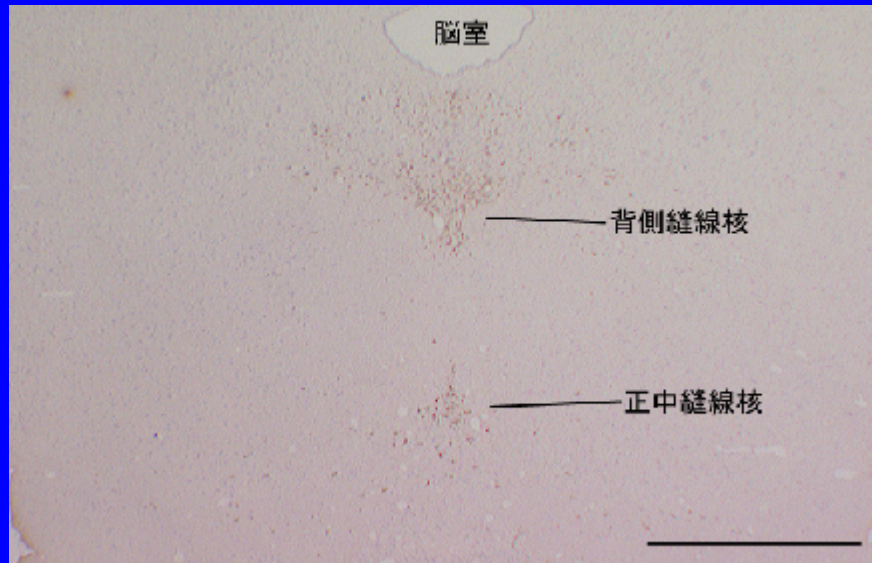
嗅球摘出21日目 ミルナシプラン投与



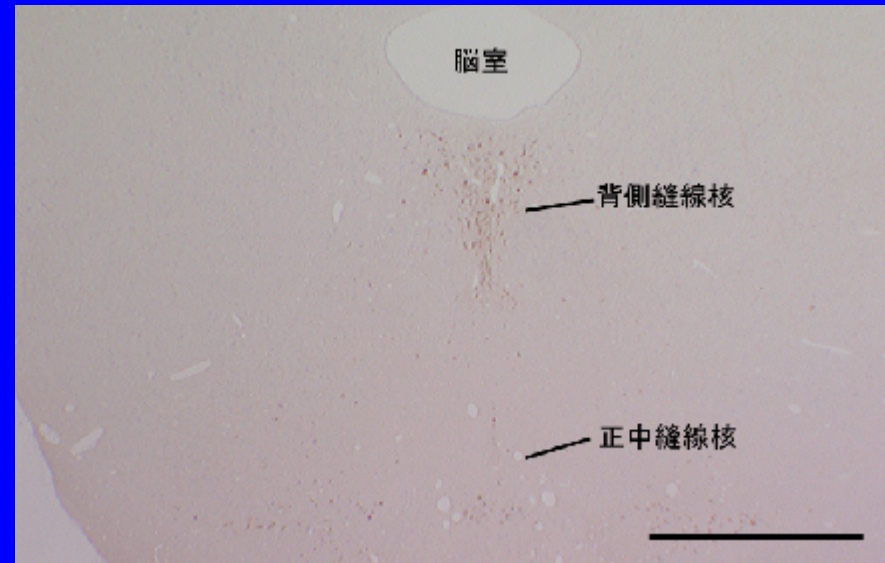
嗅球摘出21日目 媒体投与

ミルナシプラン投与により青斑核のTH陽性細胞が増加しています。

嗅球摘出21日目 フルボキサミン投与 縫線核 TPH免疫染色



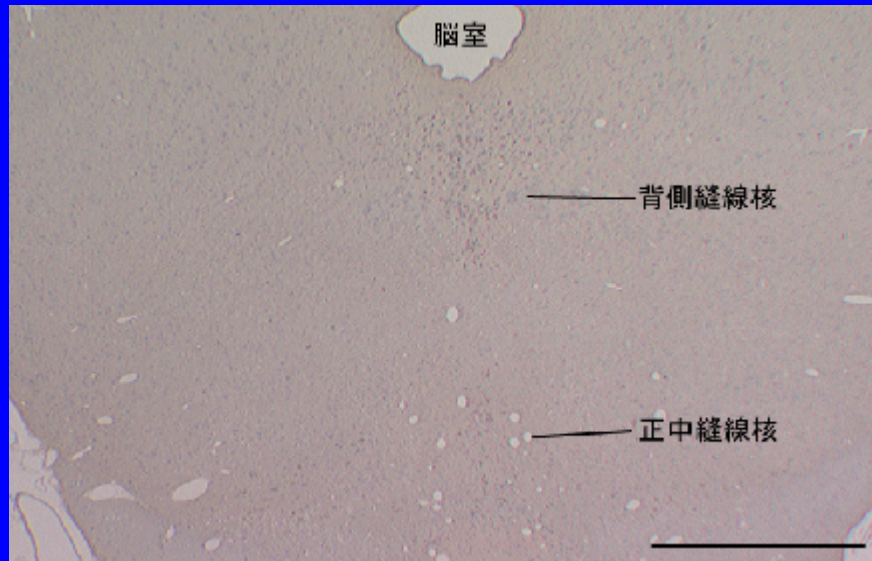
嗅球摘出21日目 フルボキサミン投与



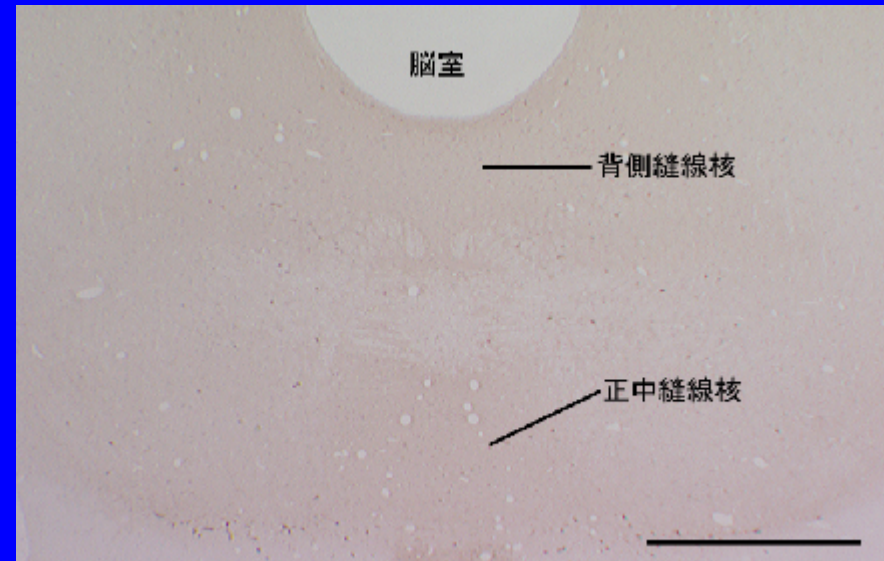
嗅球摘出21日目 媒体投与

フルボキサミン投与により縫線核のTPH陽性細胞が増加しています。

嗅球摘出21日目 フルボキサミン投与 縫線核 セロトニン免疫染色



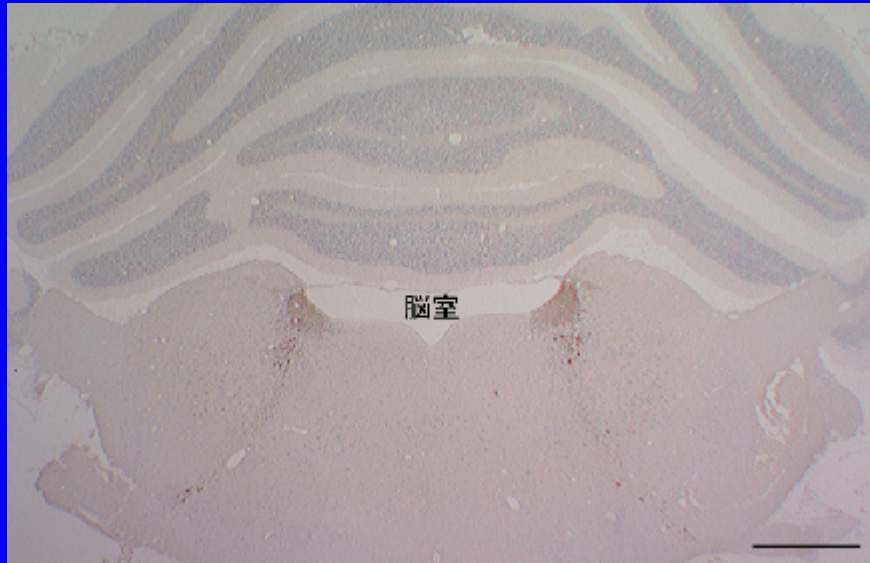
嗅球摘出21日目 フルボキサミン投与



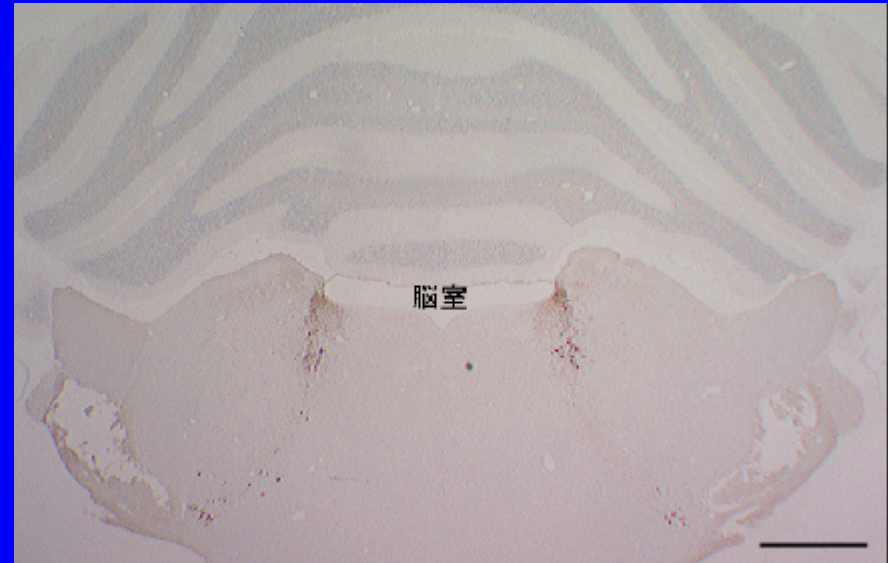
嗅球摘出21日目 媒体投与

フルボキサミン投与により縫線核のセロトニン陽性細胞が増加しています。

嗅球摘出21日目 フルボキサミン投与 青斑核 TH免疫染色



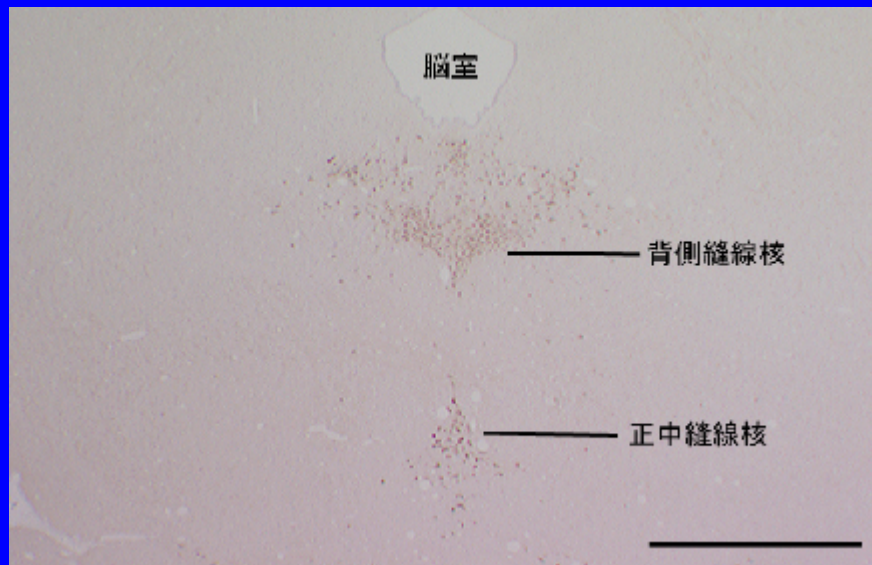
嗅球摘出21日目 フルボキサミン投与



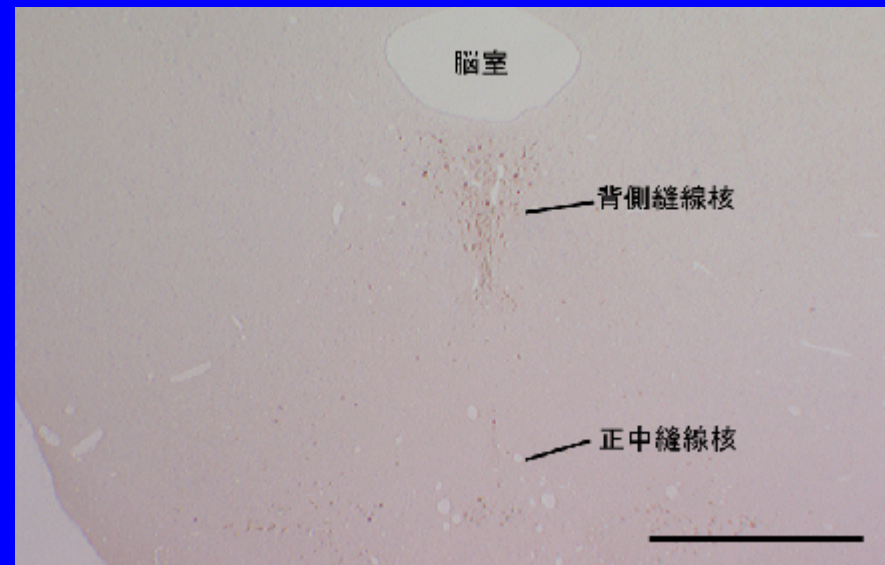
嗅球摘出21日目 媒体投与

フルボキサミン投与により青斑核のTH陽性細胞が増加しています。

嗅球摘出21日目 デシプラミン投与 縫線核 TPH免疫染色



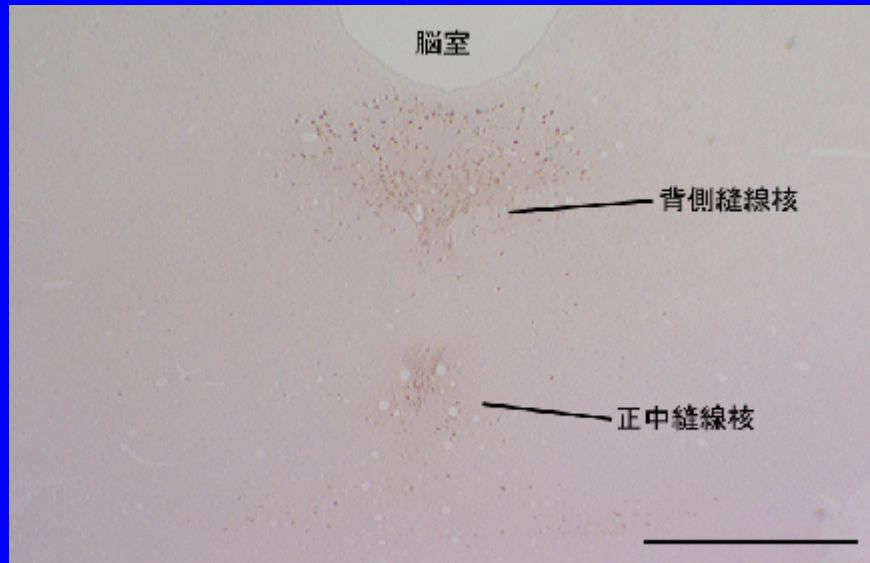
嗅球摘出21日目 デシプラミン投与



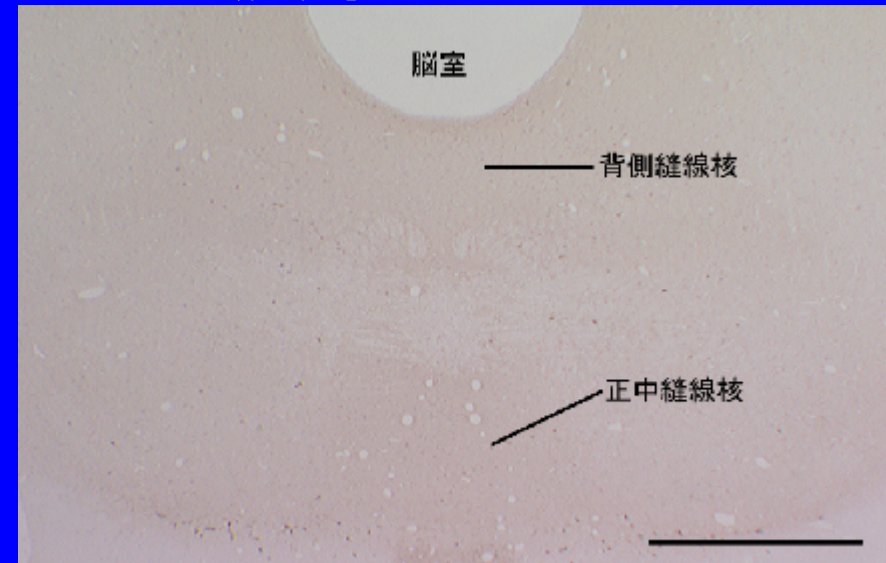
嗅球摘出21日目 媒体投与

デシプラミン投与により縫線核のTPH陽性細胞が増加しています。

嗅球摘出21日目 デシプラミン投与 縫線核 セロトニン免疫染色



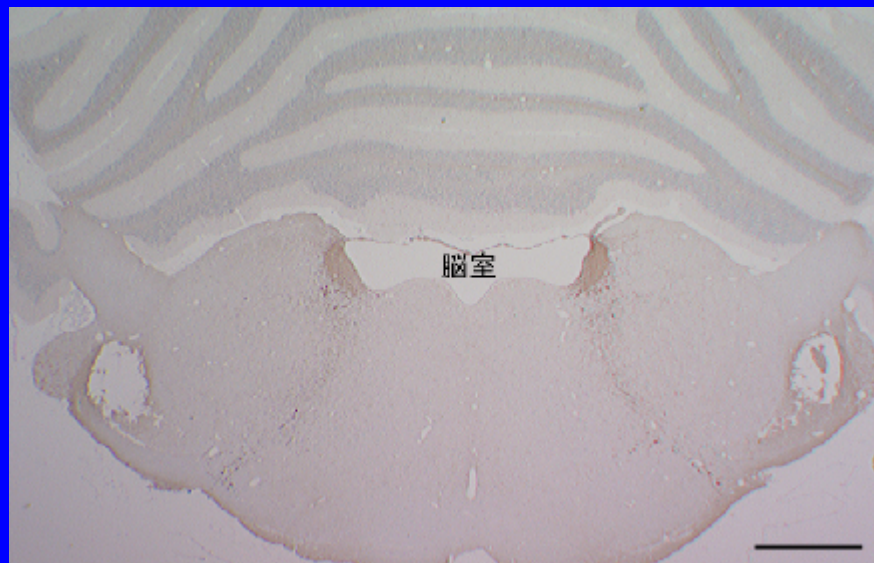
嗅球摘出21日目 デシプラミン投与



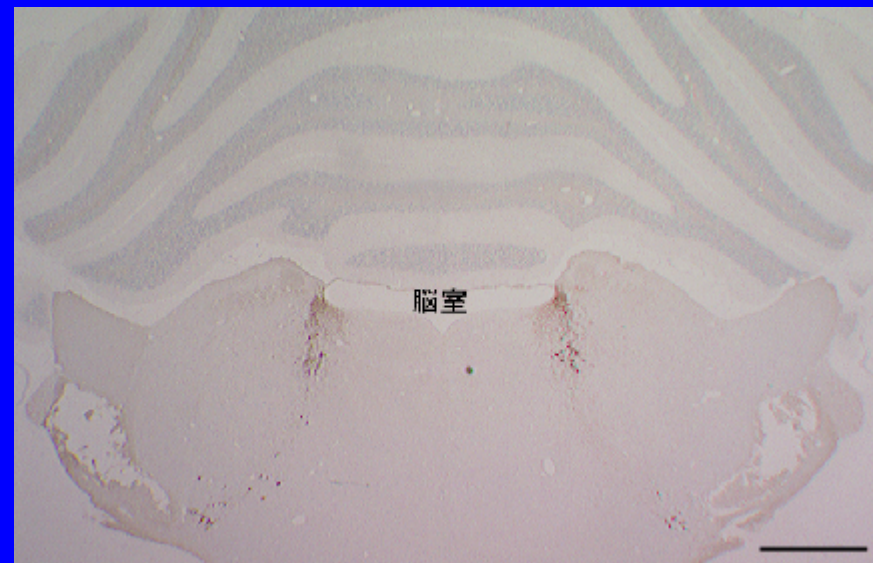
嗅球摘出21日目 媒体投与

デシプラミン投与により縫線核のセロトニン陽性細胞が増加しています。

嗅球摘出21日目 デシプラミン投与 青斑核 TH免疫染色



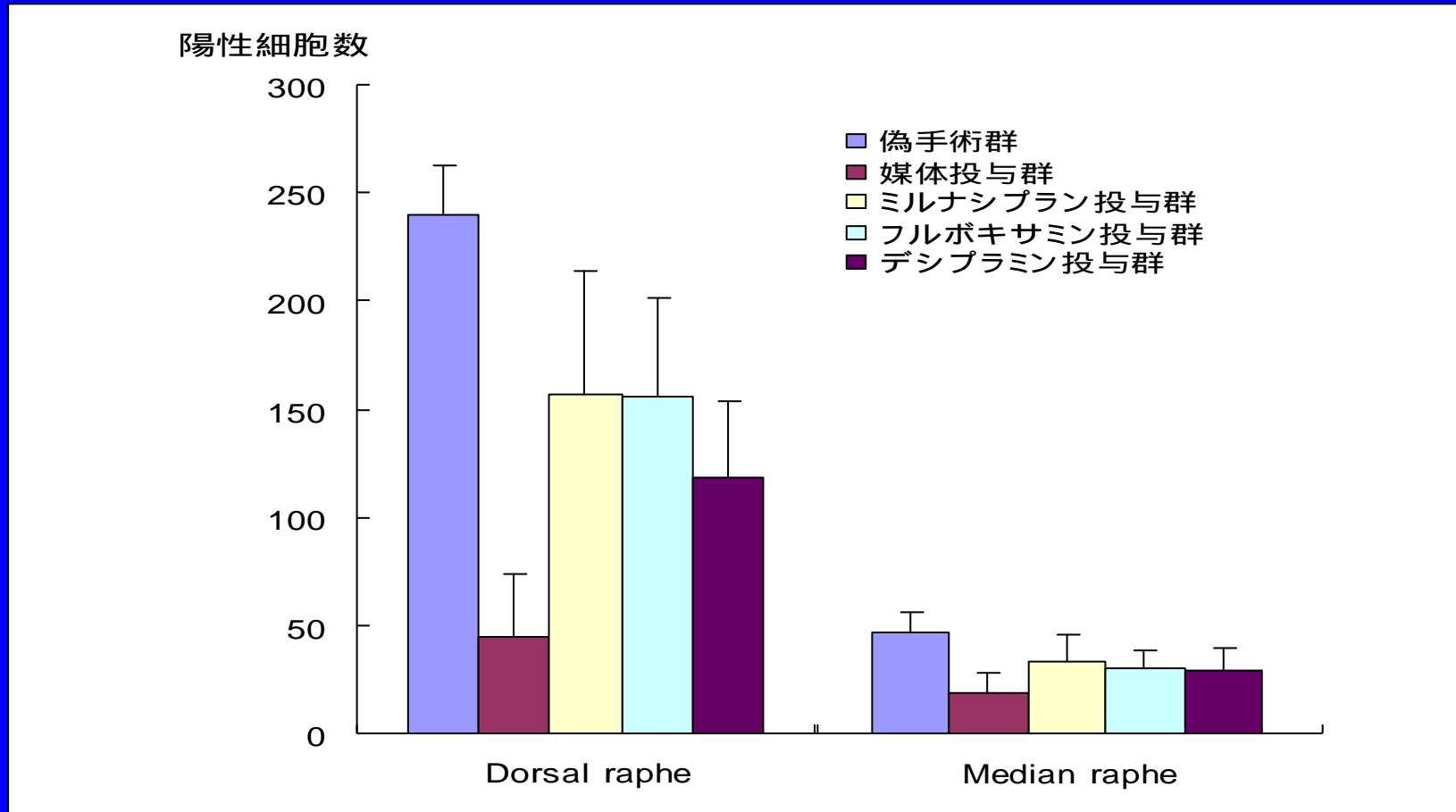
嗅球摘出21日目 デシプラミン投与



嗅球摘出21日目 媒体投与

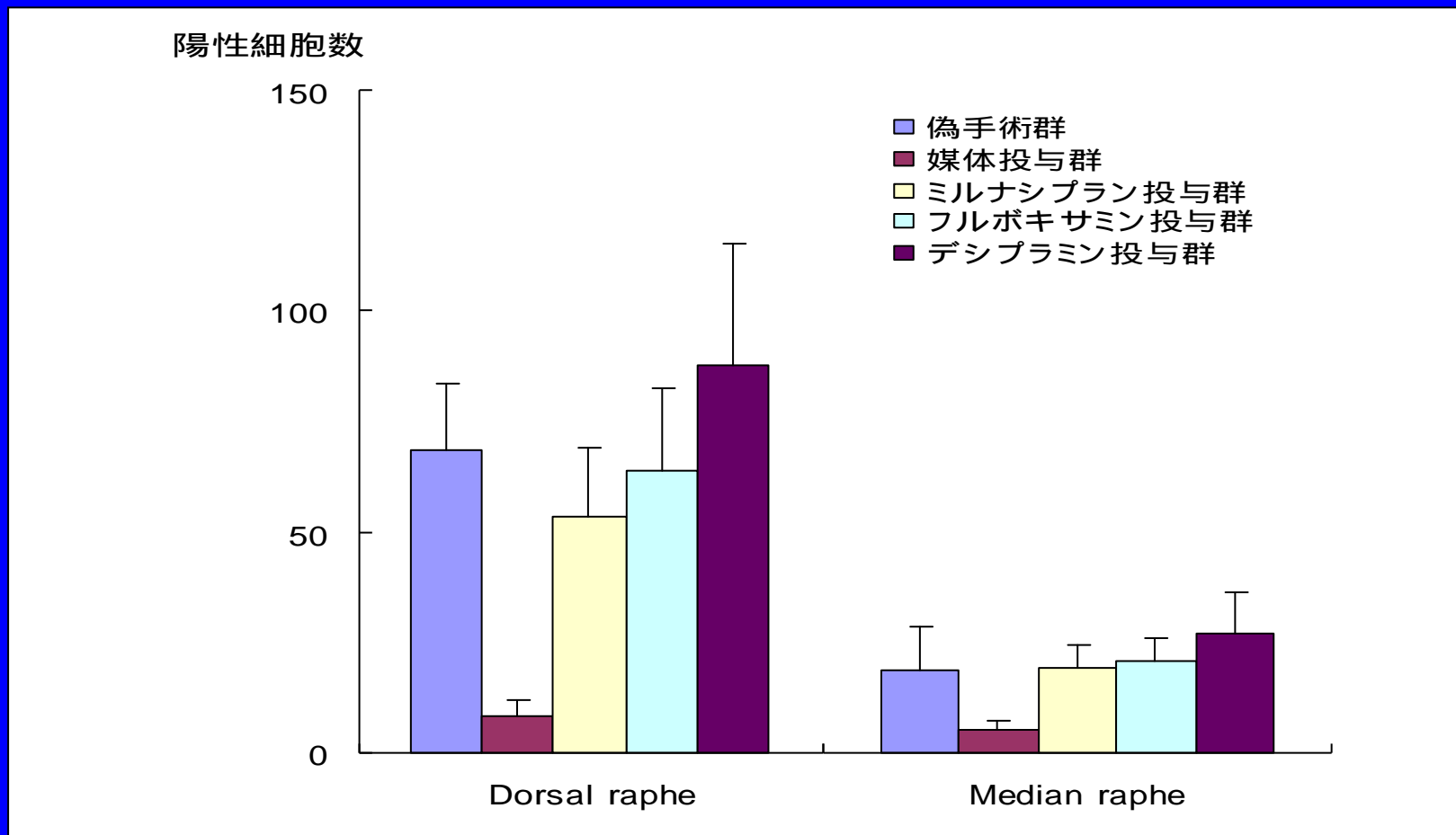
デシプラミン投与により青斑核のTH陽性細胞が増加しています。

嗅球摘出21日目ラット縫線核のTPH陽性細胞数



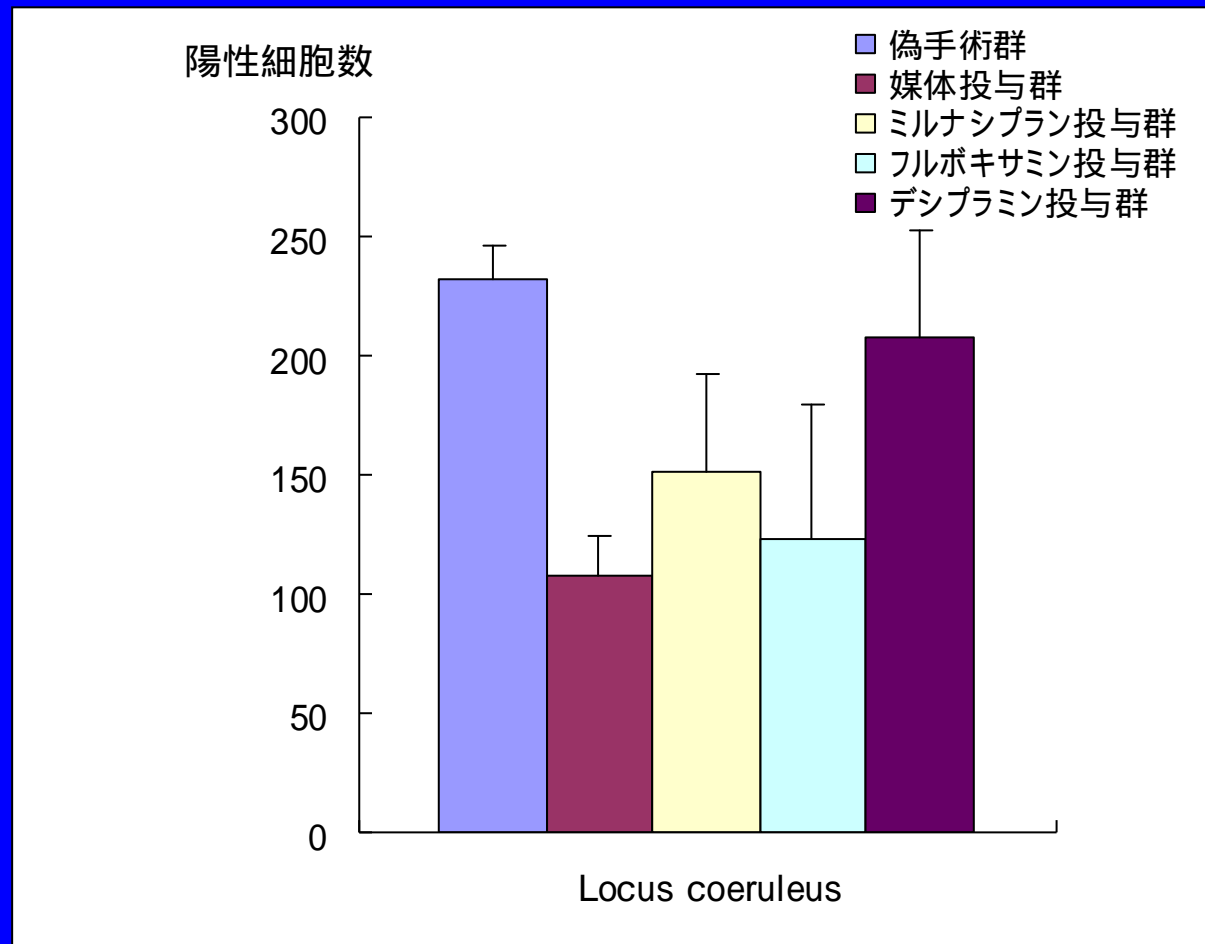
フルボキサミン、ミルナシبران、デシプラミン投与により、媒体投与群に比べTPH陽性細胞数が増加しています。

嗅球摘出21日目ラット縫線核のセロトニン陽性細胞数



フルボキサミン、ミルナシプラン、デシプラミン投与群でセロトニン陽性細胞数が、偽手術群と同程度の値を示しました。

嗅球摘出21日目ラット青斑核のTH陽性細胞数



フルボキサミン、ミルナシブラン、デシプラミン投与群のTH陽性細胞数が媒体投与群より高い数値を示しました。

結語

- 嗅球摘出1日後、梨状皮質および前頭前皮質の神経細胞壊死がみられた。
- 上記傷害の修復のために摘出部位およびRMSでGLASTの発現、前頭前皮質でTH減少、CRF-R1/2の発現および青斑核のTH減少がみられた。また扁桃体TH増加が見られた。
- 嗅球摘出14日後では、前頭前皮質の修復がみられたものの梨状皮質では神経細胞死がみられた。また、背側縫線核のTPHおよびセロトニン減少がみられた。
- 抗うつ薬の14日から21日の投与では、情動過多の改善と平行して青斑核のTH減少の改善および背側縫線核のTPHおよびセロトニン減少の改善がみられた。