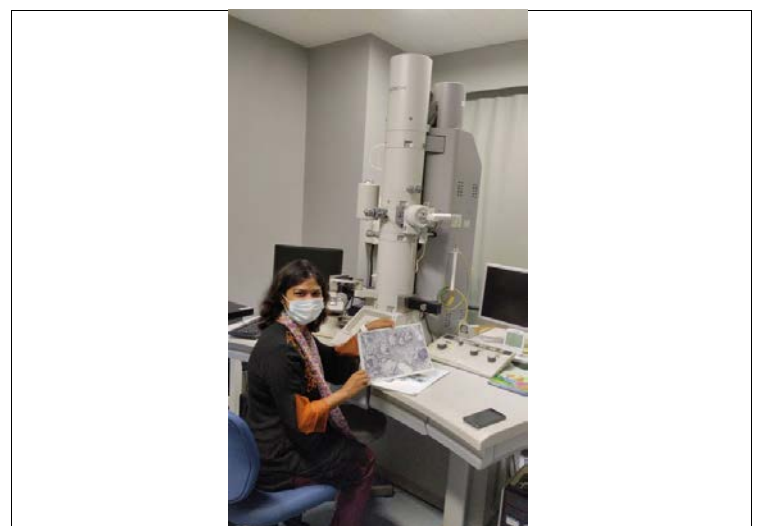


受入大学名	大阪公立大学		
Host University	Osaka Metropolitan University		
外国人研究者	ムンムン ペルビン		
Foreign Researcher	Munmun Pervin		
受入研究者	桑村 充	職名	教授
Research Advisor	Mitsuru Kuwamura	Position	Professor
受入学部/研究科	獣医学研究科		
Faculty/Department	Department of Veterinary Science		

<外国人研究者プロフィール/Profile>

国籍	バングラデシュ
Nationality	Bangladsh
所属機関	バングラデシュ農業大学
Affiliation	Bangladesh Agricultural University
現在の職名	准教授
Position	Associate Professor
研究期間	2022年7月1日～2022年09月25日 (87日間)
Period of Stay	87 days ( July 1st, 2022 - September 25th, 2022)
専攻分野	獣医病理学
Major Field	Veterinary Pathology



電子顕微鏡観察/Transmission electron microscopic

<外国人研究者からの報告/Foreign Researcher Report>

<b>①研究課題 / Theme of Research</b>
Microglia are innate immune cells in the brain and function in brain immunity. Activation of microglia cells is a key component of several neurodegenerative conditions to sepsis, also implicated in physiological processes. Numerous studies have reported the importance of microglial activation in various pathological conditions, whereas little attention has been given to the point for dynamics of microglial population under infection-induced inflammation. Lipopolysaccharide (LPS), a component cell wall of gm -ve bacteria and used as a classical model for activating immunocompetent cells and triggering a systemic and central inflammatory response. I used an E. coli LPS-based model to observe the dynamics of microglial population in brain.
<b>②研究概要 / Outline of Research</b>
Installation a total of four F344 wild type male rats; 6-week-old rats was done and acclimatized for 1 week. Body weight was measured and grouping of rats (control group: 2 rats and LPS-treated group: 2 rats). Rats in LPS-treated group received LPS dissolve in normal saline (@1mg/kg BW), intraperitoneally. Control group received normal saline at same dose of LPS. All four rats were euthanized by exsanguination under isoflurane anesthesia on each time point of post-injection (PI) days 1 and sampling was done. Brain samples and other visceral organs were collected in 10% neutral buffered formalin and Zamboni solutions for histopathology and immunohistochemistry for macrophages and microglial cells in several brain regions.
<b>③研究成果 / Results of Research</b>
Grossly, there was no detectable change was seen in brain and also in other visceral organs after LPS administration @1mg/kg BW. Microscopically, the brain showed normal histoarchitecture both in saline control and LPS-treated rats. Interestingly, immunohistochemistry by using Iba-1 showed there was increased number of microglial cells in LPS-treated rats in compare with the saline control indicating the microglial activation after LPS treatment. The morphometric character of microglial cells in LPS-treated rats also showed the activation of microglial cells. In meninges, the number of Iba-1-positive microglial cells were increased in compare with saline control rat. The CD3-positive lymphocytes also showed increased after LPS treatment in rat.
<b>④今後の計画 / Further Research Plan</b>
Neuroinflammation is the pathological hallmark of neurodegenerative disorders & other CNS impairments. Activation of the innate immune system and release of pro-inflammatory cytokines play a critical role in sustaining this neuroinflammatory response. In brain, presence of macrophage-like cells has been reported in the meninx, which may differ from each other in derivation and functions. Therefore, a panel of antibodies such as CD68, CD163, MHC class II will be investigate the pathobiological characteristics of these macrophages. The inflammatory related cytokines such as INF-g, TNF-a, IL-1b, IL-6 play very important role in the inflammatory condition, which need to be investigated in relation with the macrophages function.

<受入研究者からの報告/Research Advisor Report>

①研究課題 / Theme of Research

ミクログリアは脳内の自然免疫細胞であり、脳の免疫で機能している。ミクログリアの活性化は、敗血症に対する神経変性において重要な因子であり、生理学的なプロセスにも関与している。各種病態におけるミクログリアの活性化の重要性についての様々な研究が報告されているが、感染が誘発する炎症におけるミクログリアのダイナミクスに関してはあまり報告がない。リポ多糖類(LPS)はグラム陰性細菌の細胞壁外膜の構成成分であり、免疫担当細胞を活性化し、全身性および中枢神経系の炎症反応を引き起こすための古典的なモデルとして使用される。今回、当該研究者は、大腸菌のLPS誘発モデルを用いて、脳内のミクログリアのダイナミクスを観察した。

②研究指導概要 / Outline of Research

合計4匹のF344ラット（オス、6週齢）を用いて、LPSの処置を行った。対照群にはLPSの代わりに生理食塩水を投与した。ラットは投与後1日目にイソフルラン麻酔下にて放血によって安楽殺し、病理学的なサンプリングを行った。当該研究者は、本学の博士過程を卒業しており、動物の扱いや病理学的な手技・手法についてはすでに習熟していたが、新たに研究室にて用いている実験機器やバーチャルライドなどの取り扱い方法、データ取得方法などを実演・確認した。また、得られたデータについては、ラボの複数の教員で確認するとともに、科学的な討議を行った。

③研究指導成果 / Results of Research

全体として1mg/kg BWのLPSを投与した群では、脳および他の臓器に目立った病理組織学的変化は認められなかった。しかしながら、ミクログリアを染色するIba-1抗体を使用した免疫組織化学によって、LPS投与によるミクログリアの活性化が示唆された。ミクログリアの変化を明らかにする目的で、コンピューターを用いた形態計測を行い、ミクログリアの活性度を数値化したところ、LPS投与によるミクログリアの細胞数の増加が明らかとなった。本学に整備されている病理解析ツールを用いることにより、より詳細な形態変化を追跡することができた。さらに、CD3に対する免疫組織化学によって、LPS処置によってCD3の数も増加することを示した。

④留学生交流事業の活動状況 / Activities of International Student Exchange Program

来日後、急速に新型コロナウイルスの患者数が増加したため、予定していた本学以外の研究施設への訪問は自粛した。しかしながら、本学の博士課程を卒業し、現在、マルホ株式会社勤務するルーマニア出身の卒業生を訪問し、博士号修得後の日本と出身国との関係や、日本および出身国の研究施設について意見交換を行うことができた。

⑤今後の計画 / Further Research Plan

神経病変、神経変性疾患では特有の形態変化、炎症細胞反応がみられることから、病理学的解析には一定のスキルを必要とする。今回、自然免疫を活性化し、炎症性サイトカインの放出を来すLPS誘発炎症モデルを実施するとともに、免疫組織化学や形態計測を行うことで、解析に必要な基本的なスキルを確認できた。今後はCD68, CD168, MHCクラスIIなどの抗体を用いた免疫組織化学を発展させることにより、脳におけるマクロファージの病態生理学的な特徴を詳細に調査する予定にしている。今後もインターネットを介したデータの共有、ウェブ会議などによる討議を積極的に行い、今回の実験を展開されていく予定である。



病理解剖/necropsy



ラボのメンバーと/with lab members