

The Significance of E-cadherin and its Associated Cytoplasmic Protein α N-catenin in Adult Mouse Primary Sensory Neurons Following Peripheral Axotomy

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9264

マウス末梢軸索損傷後の一次感覚神経における上皮型カドヘリンと カドヘリン関連細胞質因子 α N カテニンの 発現変化とその意義の検討

金沢大学医学部医学科脳神経外科学教室 (主任: 山下純宏教授)

瀬 戸 陽

上皮型カドヘリン (E-カドヘリン) は、脊髄内では Rexed 第Ⅱ層に局限して発現し、一部の一次感覚神経中枢枝の選択的軸索束形成に重要な役割を果たす。本研究の目的は、一次感覚神経の末梢側軸索損傷が脊髄内の E-カドヘリンとカドヘリン関連細胞質因子 α N カテニンの発現に及ぼす影響を検討し、これらの分子の神経構築に果たす役割ならびに発現制御機構を明らかにすることである。成熟マウス坐骨神経の完全変性群 (血管挟子による挫滅) と部分的再生群 (10-0 縫合糸による結紮) において、脊髄、後根、後根神経節、坐骨神経における E-カドヘリンおよび α N カテニンの発現を免疫組織化学的ならびに生化学的手法を用いて観察した。Rexed 第Ⅱ層に局在する E-カドヘリンの発現は、末梢軸索損傷後1週に減少し、損傷後5週まで回復はみられなかった。損傷後9週において、完全変性群では発現低下のままだったのに対し、部分的再生群では第Ⅱ層に再発現がみられた。一方、 α N カテニンは正常脊髄では灰白質全体にびまん性に発現し、特に中心管と Rexed 第Ⅱ層に強く発現した。この第Ⅱ層での発現は末梢軸索損傷後1週で第Ⅱ層以外の脊髄灰白質と同じレベルまで低下し、損傷後5週まで低下したままであった。損傷後9週において、完全変性群ではこの第Ⅱ層における発現は低下したままだったのに対し、部分的再生群では回復した。神経伝達物質であるサブスタンス P は、正常脊髄の Rexed 第Ⅰ、Ⅱ層に局限して発現し、末梢側軸索損傷後に発現は低下したが、神経成長因子 (nerve growth factor, NGF) を損傷部に持続的に投与することによりこの変化は抑制された。一方、E-カドヘリン、 α N カテニンの発現の低下は NGF 投与により抑制されなかった。以上の結果より、第Ⅱ層において α N カテニンが E-カドヘリンの細胞内領域に結合してその接着性を制御し、さらに NGF とは異なる末梢からのシグナルが E-カドヘリンと α N カテニンの発現維持に関与していると考えられた。このことは、末梢側軸索損傷後におこる脊髄第Ⅱ層での知覚神経終末の可塑性の一端を E-カドヘリン- α N カテニン複合体が担っている可能性を示唆するものとおもわれた。

Key words α N-catenin, E-cadherin, mouse sensory neuron, nerve growth factor, peripheral nerve injury

痛覚は、侵害受容器によって情報化され、これに分布する一次感覚神経によって脊髄後角に入る。そのうち、脊髄視床路を上行し、視床を経て大脳皮質の一次体性感覚野に至る¹⁾。侵害受容器に分布する一次感覚神経の末梢側軸索は大部分が無髄あるいは細い有髄線維であり、その細胞体は小型のクラスに属し^{2,3)}、中枢側の軸索は後根を通過して Lissauer の背外側に入り、大部分が脊髄後角浅層に終止する^{4,5)}。Rexed の第Ⅱ層^{6,7)}は、脊髄後角浅層内の細胞密度の特に高い水平な領域であり、侵害受容器に分布する一次感覚神経の中枢側の軸索の多くがこの細胞密度の特に高い領域に終止する。ここで樹状突起や軸索に取り囲まれ、脊髄視床路のニューロンの樹状突起や介在ニューロンとシナプスを形成している⁸⁻¹⁰⁾。免疫組織化学的観察により、第Ⅱ層には種々の神経伝達物質の存在することが明らかとなっている。すなわち、グルタミン酸¹¹⁾、アスパルギン酸¹²⁾、エンケファリン^{12,13)}、サブスタンス P^{14,15)}、カルシトニン遺伝子関連

ペプチド (calcitonin gene-related peptide, CGRP)^{16,17)}、ソマトスタチン¹⁸⁻²¹⁾、ガラニン^{22,23)}、 γ -アミノブチル酸^{13,24-27)}、グリシン^{26,28)}、ニューロテンシン²⁹⁾、ディノルフィン³⁰⁾等がラットの脊髄後角に存在し、これら物質のうちのいくつかは、第Ⅱ層内の興奮性または抑制性の介在ニューロンを介した感覚情報の制御に関与している。たとえば、グルタミン酸、サブスタンス P、CGRP 等は痛覚刺激を増強する作用を持ち、エンケファリン、ソマトスタチン、ディノルフィン等は痛覚刺激を抑制する作用を持つ¹⁾。末梢側の軸索の損傷によって、脊髄後角浅層におけるこれらの神経伝達物質の発現が変化することが知られている。たとえば、ガラニンの発現は増加し³¹⁾、サブスタンス P や CGRP の発現は減少する^{32,33)}。末梢の標的器官から後根神経節細胞へ輸送される神経成長因子 (nerve growth factor, NGF) 等の神経栄養因子の減少がこれらの反応に関与するのではないかと推測されている³⁴⁾。最近、切断したラット坐骨神経の中枢端

平成8年11月29日受付, 平成9年1月9日受理

Abbreviations: ABC; avidin-biotin-peroxidase complex; CGRP, calcitonin gene-related peptide; DAB, 3, 3'-diaminobenzidine; DRG, dorsal root ganglia; NGF, nerve growth factor; TBS, Tris-buffered saline

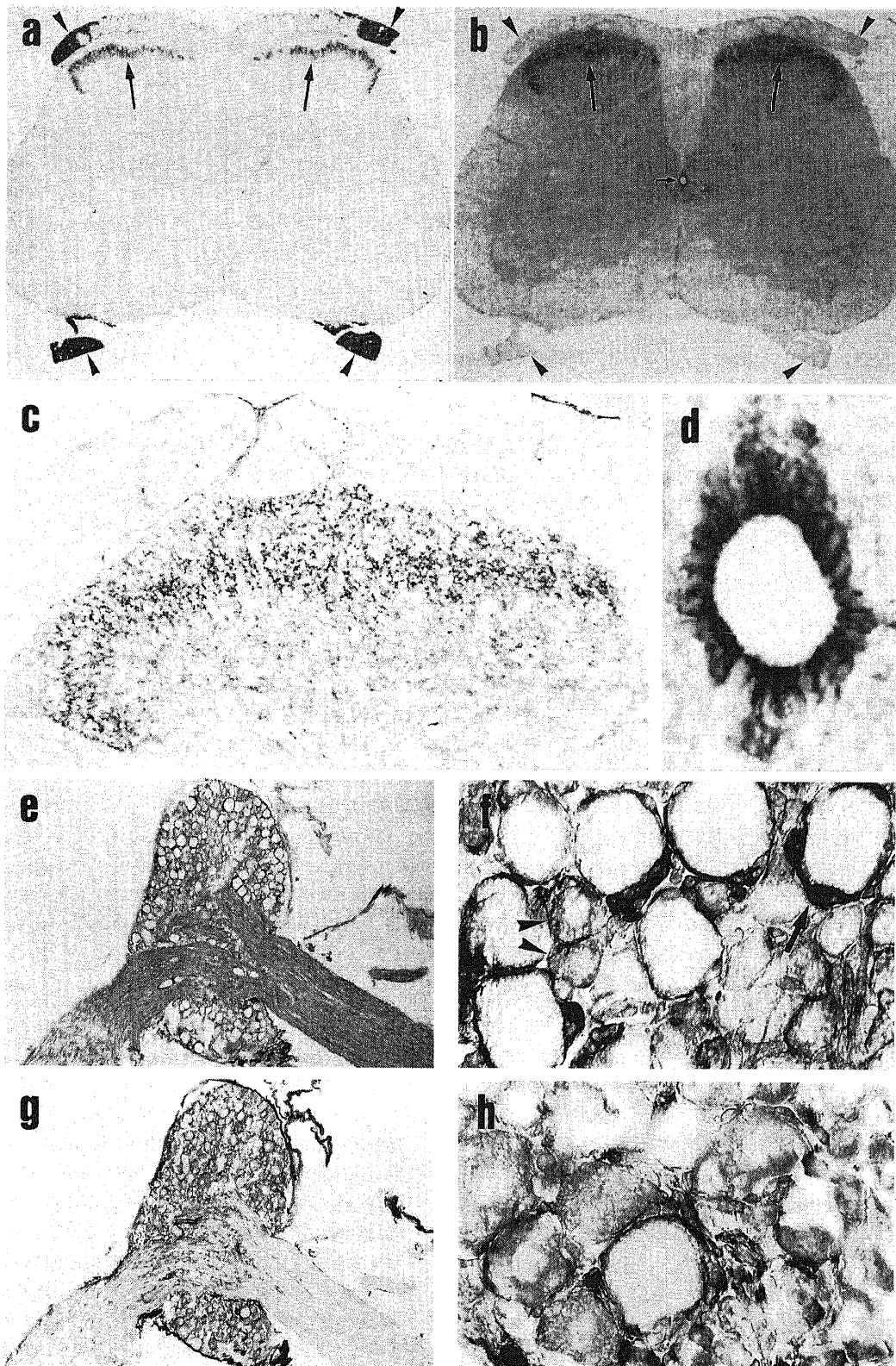


Fig. 1. Immunostaining for E-cadherin (a, e, f) and α N-catenin (b, c, d, g, h) on the adjacent transverse sections of the normal adult mouse lumbar spinal cord (a, b), the spinal cord dorsal horn (c) and the dorsal root ganglia (DRG) (e, f, g, h). (a) E-cadherin was expressed in the dorsal and ventral roots (arrow heads) and the lamina II (arrows). (b) α N-catenin was expressed in the spinal cord gray matter, especially in an area of the lamina II (large arrows), and ependymal cells of the central canal (small arrow). The dorsal and ventral roots did not express α N-catenin (arrowheads). (c) Detail of Fig 1b, showing the reaction product at the dorsal horn. (d) Detail of Fig 1b, showing that ependymal cells of the central canal strongly expressed this molecule at their cell-cell contacts. (e) The DRG stains positively for E-cadherin. (f) A higher magnification of the DRG. The perikarya of small sized neuronal cell bodies (arrowheads), and the surface of the neuronal cell bodies (arrow) show the reaction product. (g) The DRG stains positively for α N-catenin. (h) A higher magnification of the DRG. The perikarya of some of neuronal cell bodies and the surface show the reaction product. a, b, $\times 36$; c, $\times 180$; d, $\times 720$; e, g, $\times 93$; f, h, $\times 930$.

に NGF を持続的に投与することによって、軸索損傷後の後角浅層および後根神経節細胞におけるサブスタンス P の発現の減少が抑えられることがわかり、この仮説が確かめられた³⁵⁾³⁶⁾。一方、軸索の成長関連蛋白の一つである成長関連蛋白 43 (growth-associated protein 43, GAP-43) は末梢軸索損傷後に脊髄後角において発現が増加し、中枢軸索の発芽能力への関与が示唆されている³⁷⁾。

上皮型カドヘリン (epithelial cadherin, E-カドヘリン) はカルシウム依存性接着分子であるカドヘリンファミリーに属する。主として上皮細胞に発現し、細胞間の接着、極性の形成、形態形成に関与する。また、この分子の発現の減少あるいは機能喪失によって細胞間の接着能が失われることが癌細胞の浸潤、転移能に関与するとされる³⁸⁾。神経系では、後根神経節、三叉神経節、後根神経節内衛星細胞、シュワン細胞に存在し、脊髄 Rexed 第 II 層にも発現していることが知られている³⁹⁾。脊髄後角と後根の詳細な電子顕微鏡的観察によれば、この分子は一部の無髄線維—無髄線維間に局在し軸索束の形成に関与するが、神経細胞体 (二次感覚神経細胞) には発現はみられず、シナプス形成には関与しない⁴⁰⁾。組織内ハイブリッド形成法による観察でも脊髄内に E-カドヘリンのシグナルはみられない³⁹⁾。すなわち、E-カドヘリンは軸索形成期の脊髄後角内では一次感覚神経の中核側軸索に局限して存在し、一次入力線維のサブセットの選択的な軸索束形成に重要な役割を果たすことにより、感覚情報の制御あるいは中枢軸索の可塑性に関与していると推測さ

れる。さらに、最近、末梢神経損傷後、損傷部位の中枢側および末梢側において細胞円柱を形成するシュワン細胞—シュワン細胞間に E-カドヘリンが発現することが明らかとなり、末梢のグリア構築への関与が示唆される⁴¹⁾。しかし、軸索損傷時の成熟マウス脊髄内の E-カドヘリンの発現変化およびその制御機構は不明のままである。本研究では、免疫組織化学、生化学的手法を用いて、軸索損傷後の脊髄、後根神経節、末梢神経における E-カドヘリンおよびカドヘリン関連細胞内蛋白である α N カテニンの発現様式を観察することによって、成熟マウス脊髄後角における E-カドヘリンの発現の役割およびその制御機構を検討することを目的とした。

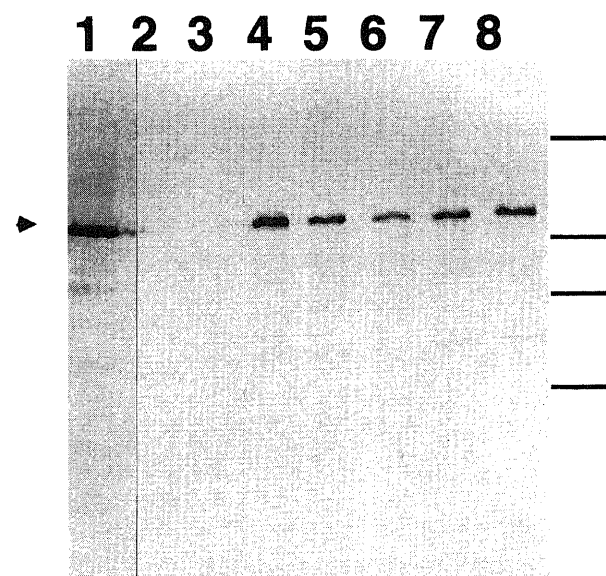
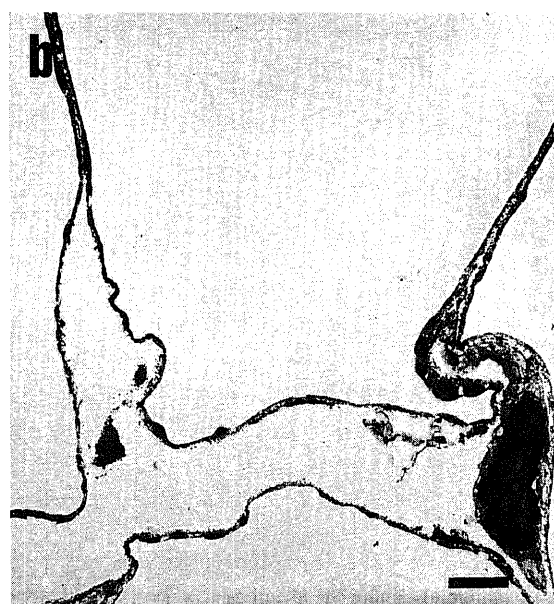
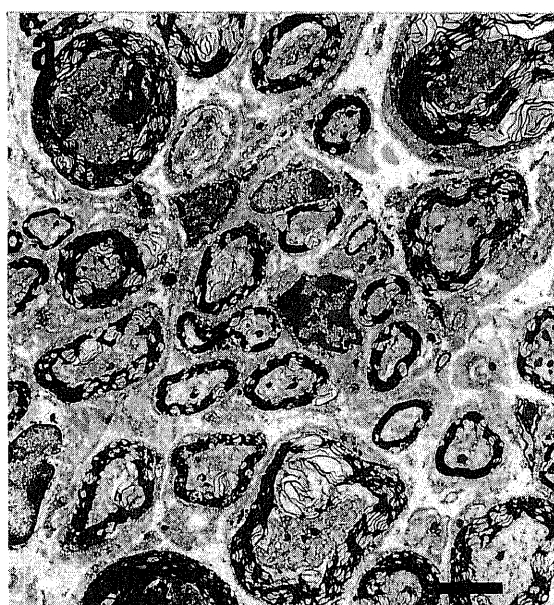


Fig. 2. Immunoblot analysis of the peripheral nerves (lanes 1, 2, 3, 4), the DRGs (lanes 5, 6), and dorsal roots (lanes 7, 8) with anti-E-cadherin monoclonal antibody, ECCD-2. Lane 1, the intact sciatic nerves; lane 2, a portion of the sciatic nerves distal to the ligature; lane 3, a portion of the sciatic nerves between the double ligatures; lane 4, a portion of the sciatic nerves proximal to the ligature; lanes 5 and 7, the lumbar DRGs and the dorsal roots of intact mice; lanes 6 and 8, DRGs and dorsal roots with their sciatic nerves ligated 7 days before harvest. Positions of molecular weight markers for 200, 116, 97, and 66k are shown.

Fig. 3. Electron microscopic view from transverse sections of the sciatic nerves distal to the lesion site 63 days after axotomy. (a) A portion approximately 2 mm distal to the ligature, showing myelinated and unmyelinated fibers. (b) A portion approximately 2 mm distal to the clipping, showing only connective tissue. Bar, 2 μ m.

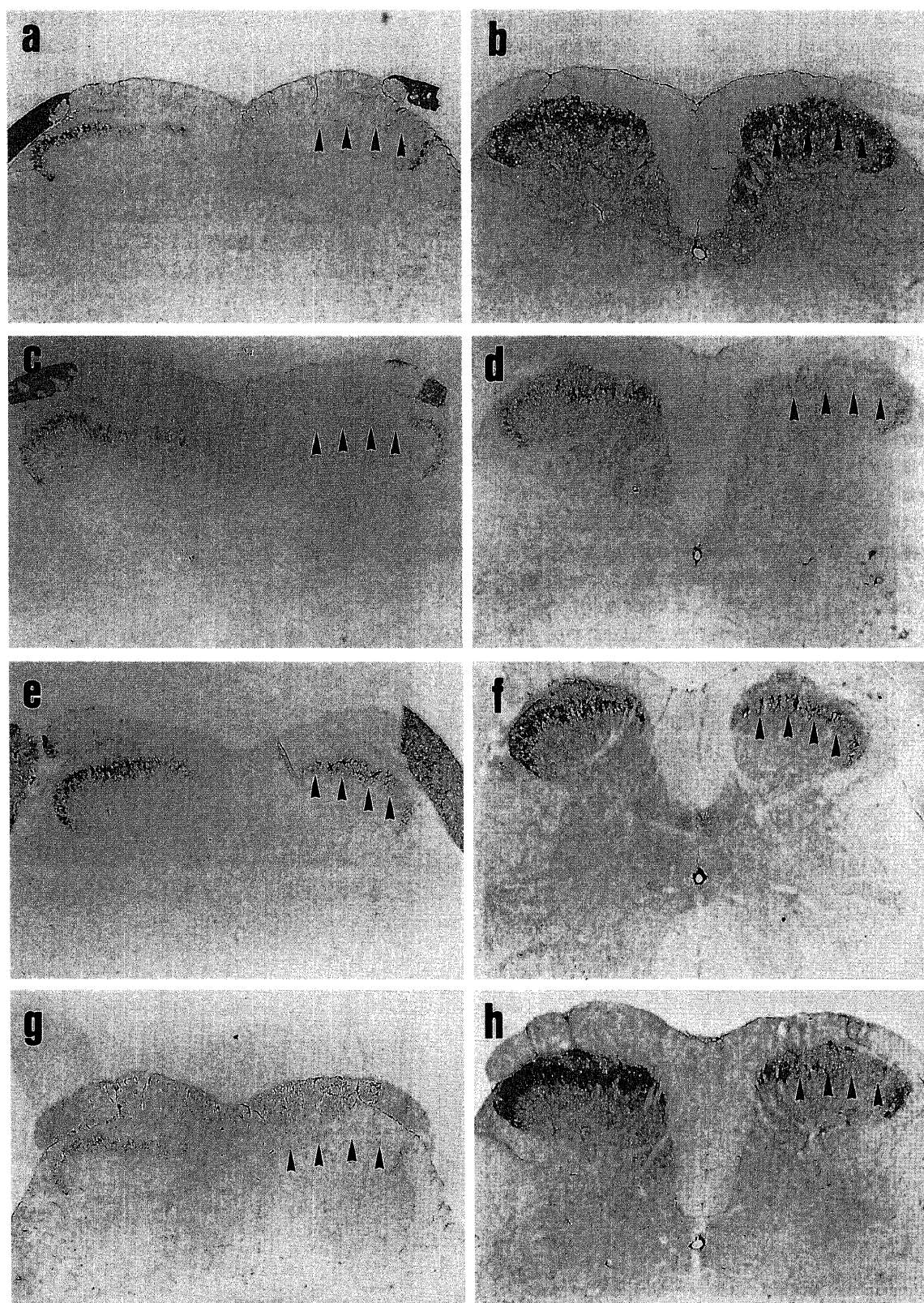


Fig. 4. Immunostaining for E-cadherin (a, c, e, g) and α N-catenin (b, d, f, h) on adjacent transverse sections of the dorsal part of the lumbar spinal cord on Day 7 (a, b), Day 35 (c, d), Day 63 (e, f) after ligation of the sciatic nerve, and Day 63 (g, h) after clipping of the sciatic nerve. (a) and (c); E-cadherin immunoreactivity in a medial part of the lamina II on operated side disappeared by Day 7 (a, arrowheads), and did not recover over the following 28 days (c, arrowheads). (b) and (d); α N-catenin immunoreactivity was diminished in a medial part of the lamina II on operated side by Day 7 after nerve ligation (b, arrowheads), and this downregulation was maintained for at least 28 days (d, arrowheads). (e) and (f); At Day 63, E-cadherin (e) and α N-catenin (f) in the lamina II almost completely recovered following sciatic nerve ligation (arrowheads). (g) and (h); It remained decreased (arrowheads) following sciatic nerve clipping (g, E-cadherin; h, α N-catenin). $\times 50$.

材料および方法

I. 動物および手術手技、標本の作製

3 から 6 週齢の雌の BALB/c マウス (日本 SLC, 静岡) 合計 52 匹を用いた。手術および標本摘出はすべて 5 % 抱水クロラール (0.01ml/g 体重) の腹腔内投与による麻酔下に行った。

1. 坐骨神経損傷の作製

一侧の大腿部で坐骨神経を露出し、約 3mm の間隔において 2 箇所を 10-0 ナイロン糸で結紮、あるいは皮下に留置した血管挟子 (閉鎖力 30-40g, Aesculap, Tuttlingen, ドイツ) で持続的に挟むことによって末梢神経損傷を作った。反対側の坐骨神経はそのままにしておき対照とした。手術後 2, 3, 7, 14, 21, 35, 63, 70, 77 日に、1mM の塩化カルシウムを含有した 0.05M, pH7.4 の Tris 塩酸緩衝液 (Tris-buffered saline supplemented with 1 mM CaCl_2 , TBS-Ca) に 4 % パラフォルムアルデヒド (免疫組織化学用) または 2.5 % グルタルアルデヒド (電子顕微鏡的観察用) を溶解した固定液を左心室より 40ml 注入し、灌流固定を行った。直ちに手術顕微鏡下に胸椎から仙椎までの椎弓を切除し、腰仙髄、後根、後根神経節、末梢神経を一塊として摘出した。

イムノプロット解析用として、上記と同様の一侧坐骨神経結紮損傷後 7 日に腰仙髄、後根、後根神経節、末梢神経を一塊として摘出した (合計 8 匹)。

2. 坐骨神経切断端への NGF 持続投与

一侧の大腿部で坐骨神経を露出し切断した後に、あらかじめ NGF (7.0 S, 0.5mg/ml, Chemicon International, Temecula, USA) を満たした浸透圧ポンプ (Alza Corporation, Palo Alto, USA) に接続したポリエチレンチューブ内に近位端を挿入した。このポンプは皮下に埋め込んだ。この条件下でポンプは、0.5ml/時の速度で 14 日間ポンプ内の薬液を近位切断端に送るように設計されていた。坐骨神経切断後 12 日目に、上述と同様の方法で灌流固定を行った。坐骨神経切断後同様の方法で生理食塩水を投与したものを対照とした。

II. 免疫組織化学

1. 光学顕微鏡的観察

摘出した標本を Tissue-Tek O.C.T. コンパウンド (Miles, Elkhart, USA) に包埋し液体窒素で凍結した後、Cryostat (Miles) にて 6 μm の厚さの切片を作製し、ポリ-L-リジン塗ったスライドガラスにのせた。内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止するために、切片を -20°C で 20 分間 3 % 過酸化水素水を含有したメタノールに浸けた。非特異的抗体を阻止するために 0.1 % 正常兔血清を含む TBS-Ca と 20 分間室温で反応させた。一次抗体として抗 E-カドヘリンラットモノクローナル抗体 ECCD-2⁴²⁾、抗 αN カテニンラットモノクローナル抗体 NCAT-2⁴³⁾、抗サブスタンス P ラットモノクローナル抗体 MAB 356 (Chemicon International) を用いた。一次抗体と室温で 1 時間反応させ洗浄した後に、二次抗体として rabbit biotinylated anti-rat antibody (Vector, Burlingame, USA) と室温で 1 時間反応させた。アビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ複合体 (avidin-biotin-peroxidase complex, ABC) 法とジアミノベンジジン (3, 3-diaminobenzidine, DAB) 処理により免疫反応の可視化をおこなった。

2. 免疫電子顕微鏡的観察

D. S. K マイクロスライサー (堂阪イーエム, 大阪) を用いて、

摘出標本より厚さ 100 μm の切片を作製した。20 % ショ糖を含有した TBS-Ca 内に 4°C で 1 時間静置した後、0.1 % 正常兔血清を含む TBS-Ca と 4°C で 3 時間反応させた。一次抗体として ECCD-2 と 4°C で一晚反応させ、洗浄後二次抗体である rabbit biotinylated anti-rat antibody と 4°C で一晚反応させ、さらに ABC と 4°C で 6 時間反応させた。0.1 % グルタルアルデヒドで再固定をした後、0.02 % DAB を含む 0.05M の Tris 塩酸緩衝液 (pH7.6) に 30 分間、さらに 0.005 % 過酸化水素を加えた反応液に 15 分間静置した。2 % 四酸化オスミウムで後固定を行った後、エタノールで脱水し、エポンに包埋した。LKB-2188 型ウルトラトーム (LKB-Produkter, Bromma, Sweden) にて超薄切片を作製し、電子染色を行わずに H-600 型電子顕微鏡 (日立, 東京) にて観察した。

III. イムノプロット解析

2 から 4 匹の動物より採取した組織を機械的に分散させ、SDS 緩衝液に溶解した後に、音波処理し、5 % の 2-メルカプトエタノールを含む SDS 緩衝液内で 95°C で 3 分間温浴させた。これらの試料を SDS-PAGE で分離し、ニトロセルロース膜に転写した。この膜を 5 % スキムミルクを含む TBS-Ca に 15 分間浸透させた後、ECCD-2 と 1 時間反応させた。アルカリホスファターゼ結合山羊抗ラット IgG 抗体 (Zymed, California, USA) とアルカリホスファターゼ基質キット (Vector) によって免疫反応の可視化をおこなった。

成 績

I. 正常脊髄、後根、後根神経節、末梢神経における E-カドヘリン、 αN カテニンの局在

脊髄内で E-カドヘリンは Rexed の第 II 層に局限して存在し

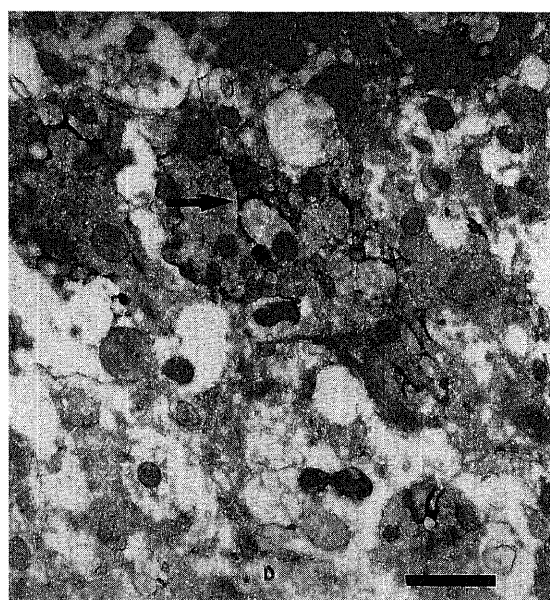


Fig. 5. Immunoelectron microscopic localization of E-cadherin in the lamina II of the lumbar spinal cord 2 days after ligation of the sciatic nerve. Only a subpopulation of unmyelinated axons expressed E-cadherin at their axon-axon contacts (arrow), and these E-cadherin-positive axons were clustered together and segregated from E-cadherin-negative ones. Bar, 1 μm .

た。これは、以前の報告³⁰⁾と同様であった(図 1a)。前根、後根、後根神経節、末梢神経においても光学顕微鏡による観察で E-カドヘリンの発現がみられた(図 1a, e, f)。後根神経節内で、E-カドヘリン陽性の領域は、神経細胞体の周辺部の衛星細胞に相当する部位と径 10mm 前後のサイズの小さい細胞体の細胞質に限られた(図 1e, f)。

α N カテニンは脊髄灰白質全体に発現し、Rexed 第 II 層および中心管の上皮細胞に強陽性であった(図 1b)。第 II 層において、 α N カテニン陽性の領域は E-カドヘリンと同様の点状の層配列を示した(図 1c)。中心管において、 α N カテニンは隣接する上皮細胞間に強く発現し、基底面での発現は弱かった(図 1d)。前根、後根には発現はみられなかった(図 1b)。後根神経節において、神経細胞体の周辺部および細胞質に陽性であった(図 1g, h)。

II. 正常状態および末梢側軸索損傷後の後根、後根神経節、末梢神経におけるイムノプロット解析

末梢側軸索損傷が、後根、後根神経節、末梢神経における E-カドヘリンの発現に影響を与えるかどうかを調べるために、イムノプロット解析を行った。損傷後 7 日では、損傷部より遠位の末梢神経において正常神経に比し E-カドヘリンの発現の減少がみられたが、後根、後根神経節では損傷側非損傷側間で発現量の差はみられなかった(図 2)。

III. 神経損傷部の観察

結紮およびクリップによる神経の損傷と回復の程度を調べるために、坐骨神経損傷部末梢の電子顕微鏡的観察を行った。損

傷後 9 週において、結紮による損傷では有髄および無髄線維がみられた(図 3a)。この損傷を与えた動物を部分的再生群とした。クリップによる損傷では神経周膜のみが残存しその中には再生線維は全くみられなかった(図 3b)。この損傷を与えた動物を完全変性群とした。

IV. 末梢側軸索損傷後の脊髄内における E-カドヘリンの発現の変化

第 II 層における E-カドヘリンの発現は、坐骨神経の結紮後 1 週で減少し(図 4a)、末梢側軸索損傷後 5 週で減少したままであった(図 4c)。この変化は、坐骨神経からの中枢枝が終止する第 II 層内側部⁴⁰⁾で最もあきらかであった。損傷後 9 週において、部分的再生群では第 II 層内側部に E-カドヘリンが再出現した(図 4e)のに対し、完全変性群では E-カドヘリンの再発現はみられなかった(図 4g)。損傷後 2 日の光学顕微鏡による観察上まだ E-カドヘリンの減少がみられない時期の、電子顕微鏡による観察では、この分子は後角内の一部の無髄神経線維の軸索膜間に局在して発現していた(図 5)。

V. 末梢側軸索損傷後の脊髄内における α N カテニンの発現の変化

第 II 層における α N カテニンの発現は、結紮による坐骨神経の損傷後 1 週から(図 4b) 5 週まで(図 4d) 減少したままであった。この変化は、坐骨神経からの中枢枝が終止する第 II 層内側部⁴⁰⁾で最もあきらかであった。損傷後 9 週において、部分的再生群では第 II 層内側部に α N カテニンが再出現した(図 4f)のに対し、完全変性群では α N カテニンが減少したままであ

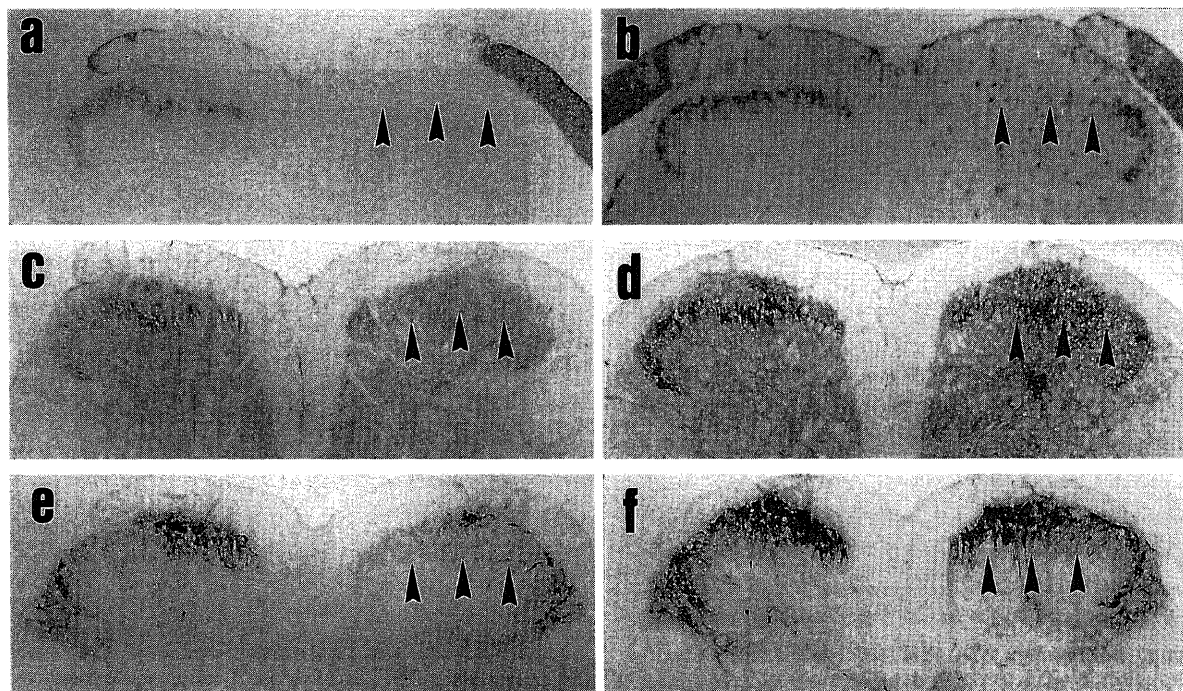


Fig. 6. Immunostaining for E-cadherin (a, b), α N-catenin (c, d), and substance P (e, f) on adjacent transverse sections of the dorsal parts of the lumbar spinal cords from saline-treated (a, c, e), and NGF-treated (b, d, f) animals for 12 days after axotomy. In saline-treated preparations, the immunoreactivity of all of these substances was diminished in the medial part of the lamina II on the treated side as compared with those on the untreated control side (a, c, and e, arrowheads). In contrast, both E-cadherin and α N-catenin decreased in the lamina II on the treated side (b and d, arrowheads), whereas substance P did not decrease in the superficial dorsal horn on the treated side in NGF-treated preparations (f, arrowheads). $\times 50$.

た (図 4h)。

VI. NGF 投与

生理食塩水を投与したコントロール群では、神経切断後12日において脊髄後角浅層内の E-カドヘリン、 α N カテニン、サブスタンス P の発現は減少した (図 6a, c, e)。NGF を投与した群では、神経切断後12日において脊髄後角浅層内のサブスタンス P の減少は抑えられたが (図 6f)、E-カドヘリン、 α N カテニンの発現は減少したままであった (図 6b, d)。

考 察

本研究において、脊髄神経節細胞の末梢枝の集合である坐骨神経に損傷を与えると中枢枝の終わる脊髄後角表層でカルシウム依存性接着分子 E-カドヘリンの発現が変化することを初めて報告した。Shimamura ら³⁹⁾は、腰仙髄の後根を切断し、その14日後に Rexed 第Ⅱ層における E-カドヘリンの発現が著明に減少することより、後角内の E-カドヘリン陽性神経線維が一次感覚線維由来であるとした。この現象は、E-カドヘリンを発現する損傷部以降の中枢枝がワーラー変性により消失した結果と推測される。一方、末梢側軸索の損傷もまた第Ⅱ層におけるこの分子の減少を誘導することは、まったく異なった現象である。これまでも一次感覚神経の末梢側軸索の損傷の後に脊髄後角の種々の神経伝達物質および神経伝達物質受容体の発現が変化することが報告されている。たとえば、ラット腰髄後角のサブスタンス P の発現は、坐骨神経を損傷すると1週間までに減少し、この蛋白の減少は2か月持続する³⁹⁾。また、サブスタンス P 受容体は坐骨神経損傷あるいは坐骨神経の分布領域である後肢に慢性炎症の負荷をかけると発現が増加し、この現象は持続的疼痛下での中枢性の痛覚刺激の増強効果に関与すると推測されている⁴⁰⁾。最近になって脊髄後角内のニューロンにおいて、前初期遺伝子 (immediate-early gene) の一つである *c-fos* が標的器官の炎症、痛覚刺激、侵害一次入力線維の電気的あるいは化学的刺激の後に増加することが明らかとなり、この現象が、脊髄後角における痛覚刺激増強の細胞内機構に関与する可能性が示唆されている⁴⁰⁾。本研究の結果は、上記物質のみならず接着分子 E-カドヘリンもまた末梢神経損傷後の痛覚の変調に関与することを示唆する。

E-カドヘリンの発現変化にまったく同調して α N カテニンが低下・再出現した。カドヘリンの接着機能の維持にはカドヘリンの細胞内領域と細胞骨格およびアクチンフィラメントとの結合が必要で³⁸⁾、 α 、 β 、 γ の3種類のカテニンがカドヘリンと細胞骨格とを繋ぐ役割を担っていることが最近の治験で明らかとなっている^{47)~49)}。カドヘリン関連細胞内蛋白のひとつである α カテニンは、カドヘリンの細胞内領域と細胞骨格蛋白の結合に介在してカドヘリンの機能を制御し^{47)~49)}、 α E カテニン⁵⁰⁾⁵¹⁾と α N カテニン⁴³⁾の2つのサブタイプが同定されている。試験管内の観察によれば、各々のサブタイプは E-カドヘリンと神経型カドヘリン (neural cadherin, N-カドヘリン) の両者の細胞内領域との結合が可能である⁴⁶⁾。本研究において、脊髄第Ⅱ層における E-カドヘリンと α N カテニンの正常組織における局在および末梢軸索損傷後の発現の変化は一致していた。一方、前根、後根では E-カドヘリンの発現がみられたが、 α N カテニンの発現はまったくみられなかった。すなわち、生体内では第Ⅱ層内の E-カドヘリン陽性中枢枝は E-カドヘリン- α N カテニン複合体を形成し、神経根内では E-カドヘリン- α E カテニン複合体

を形成すると想像される。

神経が損傷・切断されたという情報は少なくとも以下の3要素の内のいずれかあるいは複数の機構により神経細胞体まで伝わりとされる。すなわち、1)末梢側の終末から逆行性軸索輸送により運ばれるある種の分子の途絶、2)正常状態であれば終末まで運ばれるはずのある種の物質あるいはこの二次産物が中途の損傷部位で逆行して後根神経節に戻る、3)損傷部位の細胞外腔からある種の物質が軸索へ流入し神経細胞へ逆行する。神経細胞はこれらの情報に反応し、種々の物質の産生低下あるいは亢進が誘導されると想像されるが、上記3要素の中で逆行性軸索輸送により運ばれる物質の代表として NGF があげられる。実際、坐骨神経切断後、中枢側切断端に NGF を持続的に投与することにより脊髄後角におけるサブスタンス P の発現の減少が阻止されること³⁹⁾、ビンブラスチン等の軸索輸送阻害物質を坐骨神経に局所投与することにより神経損傷後と同様に後角内サブスタンス P の発現が減少すること⁵²⁾などから、末梢の標的器官から細胞体へ逆行輸送される NGF 等の神経栄養因子が後角内での神経伝達物質の発現の維持に関与すると推測される。しかしながら本実験で、NGF の投与により脊髄後角におけるサブスタンス P の発現低下は阻止されたが、E-カドヘリンと α N カテニンの発現消失を阻止できなかった。すなわち、NGF 投与が脊髄後角ならびに後根神経節内のサブスタンス P の発現低下を阻止できる一方で、細胞骨格蛋白チユブリンの発現変化は阻止できない事実³⁹⁾は、NGF はサブスタンス P などの神経伝達物質の発現の制御には関与するが、チユブリン、アクチン等の細胞の成長・骨格には関与が少ないことを示唆するものと思われる。

第Ⅱ層における E-カドヘリンと α N カテニンの発現は、部分的な軸索の再生がみられた群ではほぼ回復したのに対し、末梢軸索が変性した群では消失したままであった。この結果から、第Ⅱ層におけるこの分子の発現と末梢側の軸索の再生とが強く関連することは明らかである。ラット坐骨神経を切断すると、腰仙髄第Ⅱ層において、損傷後3日よりシナプス小胞、シナプス接触の減少、グリア要素の増加、続いて一次入力線維由来の終末の完全消失がおり、この変化は少なくとも60日間持続することが知られている⁵³⁾⁵⁴⁾。形態上の変化、時間経過ともにワーラー変性とは異なることから、経神経節変性性萎縮 (transganglionic degenerative atrophy) と呼ばれている⁵³⁾。現時点では、この環境下で中枢側軸索の再生が起こるのかどうかは結論が出ていないが、末梢神経をある長さにわたり切除し再生が起こらないようにした系では、脊髄後角内の、一次入力線維終末が変性に陥った領域への近接領域からの神経線維の側枝発芽は全く見られないのに対し^{55)~57)}、末梢神経を切断または糸で結紮することにより損傷し、損傷後末梢側軸索が再生する系では、脊髄後角内の、一次入力線維終末が変性に陥った領域への近接領域からの神経線維の側枝発芽が見られる⁵⁷⁾⁵⁸⁾。すなわち、本研究における E-カドヘリンの再発現は、E-カドヘリンを発現する中枢側軸索の側枝発芽の結果として起こっている可能性がある。

Shimamura らによると、培養後根神経節細胞のうち小型細胞のみが E-カドヘリン陽性であった³⁹⁾。本研究における生体内の観察でも、後根神経節の中で、小型の神経細胞体が E-カドヘリン陽性であり、培養系での観察結果に一致した。痛覚情報を伝達する一次感覚神経の細胞体は小型のクラスに属することが

知られており²³⁾、本研究の結果は E-カドヘリンが痛覚情報を伝達する一次感覚神経の細胞体に局在しているとする可能性をさらに指示するものである。

イムノブロット解析による観察では、後根および後根神経節における E-カドヘリンの発現量への末梢軸索損傷の与える影響を検出できなかった。これは、後根神経節および後根に E-カドヘリン陽性の衛星細胞およびシュワン細胞が混在する⁴⁰⁾ため、蛋白量の変化がわずかであるためだと思われる。しかしながら、末梢側軸索損傷が後根神経節における E-カドヘリンの産生を抑制する、あるいは後根内での軸索輸送を遅延させている可能性は否定できず、組織内ハイブリッド形成法あるいは逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 法による検索が必要と思われる。

中心管の上皮細胞、脊髄灰白質、前角内の細胞体で α N カテニンの発現がみられた。中心管においては、 α N カテニンは隣接する上皮細胞間に強く発現したが、E-カドヘリンの発現はまったくみられなかった。すなわち、第 II 層において α N カテニンは E-カドヘリンの細胞内領域に結合しており、中心管の上皮細胞および第 II 層を除く脊髄灰白質、前角内の細胞体において α N カテニンは E-カドヘリン以外のカドヘリンの細胞内領域に結合している可能性を示唆する。成熟ラットおよびマウスにおいて、中心管に発現する接着分子としてポリシアル酸結合神経細胞接着分子が知られている⁵⁰⁾⁻⁵¹⁾が、本結果より、マウスの中心管には神経細胞接着分子だけでなくカルシウム依存性接着分子カドヘリンが存在し、上皮細胞間の接着に関与していると思われる。実際、鶏胎仔の神経管形成期に、神経管の管腔に面する神経上皮層に N-カドヘリンが強く発現しており⁵²⁾、成熟動物においても、中心管の上皮細胞間に N-カドヘリンが存在し α N カテニンと複合体を形成し、上皮細胞間の接着に関与している可能性が示唆される。

結 論

末梢側軸索損傷後におこる脊髄内および一次感覚神経におけるカルシウム依存性細胞接着分子 E-カドヘリンとカドヘリン関連細胞内蛋白 α N カテニンの発現変化を免疫組織化学および生化学的に検討し、これらの分子の発現制御機構ならびに成熟マウス神経構築に果たす役割を検討した。

1. 脊髄 Rexed 第 II 層に局在する E-カドヘリンの発現は、末梢軸索損傷後 1 週に消失し、損傷後 5 週まで回復はみられなかった。

2. 損傷後 9 週において、末梢枝の変性群では E-カドヘリンの発現が消失したままだったのに対し、再生群では E-カドヘリンの発現は回復した。

3. α N カテニンは脊髄灰白質にびまん性に発現し、特に中心管と脊髄後角浅層に強く発現した。

4. 脊髄第 II 層での α N カテニンの発現は末梢軸索損傷後 1 週に他の脊髄灰白質と同じレベルまで低下した。損傷後 5 週までこの発現低下は続き、損傷後 9 週において、完全変性群では α N カテニンの発現が減少したままだったのに対し、部分的再生群では発現が回復した。すなわち、第 II 層での α N カテニンの経時的変化は E-カドヘリンに全く同調していた。

5. 第 II 層を含む後角浅層の神経伝達物質サブスタンス P は、末梢枝損傷により発現が低下したが、NGF 投与によりこの発現低下を阻止できた。しかしながら、E-カドヘリン、 α N カテ

ニンの発現低下は阻止できなかった。

以上の結果より、E-カドヘリンと α N カテニンの発現が同調して変化することから、第 II 層において α N カテニンが E-カドヘリンの細胞内領域に結合してその接着性を制御しており、さらに末梢からの NGF 以外のシグナルが E-カドヘリンと α N カテニンの発現を維持していると考えられた。このことは、末梢側軸索損傷後におこる脊髄第 II 層での知覚神経終末の可塑性の一端を E-カドヘリン- α N カテニン複合体が担っている可能性を示唆するものである。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、後校閲を賜った恩師金沢大学医学部脳神経外科学教室山下純宏教授に深甚の謝意を表します。また、直接御指導いただいた同教室長谷川光広講師に感謝いたします。更に、抗体を提供して下さるとともに、貴重な後助言を頂きました京都大学理学部生物物理学教室竹市雅俊教授に厚く御礼申し上げます。本研究に御協力頂いた脳神経外科学教室の諸先生、電子顕微鏡技術員横田輝一氏ならびに今村明子技官に感謝の意を表します。なお本論文の要旨は、神経組織の成長再生移植研究会第 10 回学術集会 (1995, 東京)、第 6 回神経損傷の基礎シンポジウム (1995, 東京)、第 55 回日本脳神経外科学会総会 (1996, 富山) において発表した。

文 献

- 1) Willis WD, Westlund KN, Carlton SM. Pain. In Paxinos G (ed), The Rat Nervous System, 2nd ed, p725-750, Academic Press, San Diego, 1995
- 2) Lawson SN, Waddell PJ. Soma neurofilament immunoreactivity is related to cell size and fibre conduction velocity in rat primary sensory neurons. J Physiol Lond 435: 41-63, 1991
- 3) Pearl ER. Function of dorsal root ganglion neurons: an overview. In Scott SA (ed), Sensory Neurons, 1st ed, p3-23, Oxford University Press, New York, 1992
- 4) Light AR, Perl ER. Reexamination of the dorsal root projection to the spinal dorsal horn including observations on the differential termination of coarse and fine fibers. J Comp Neurol 186: 117-132, 1979
- 5) Light AR, Perl ER. Spinal terminations of functionally identified primary afferent neurons with slowly conducting myelinated fibers. J Comp Neurol 186: 151-172, 1979
- 6) Rexed B. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. J Comp Neurol 96: 415-495, 1952
- 7) Rexed B. A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. J Comp Neurol 100: 297-379, 1954
- 8) Coimbra A, Sodre-Borgés BP, Magalhães MM. Fine structure, cytochemistry (acid phosphatase) and changes after dorsal root section. J Neurocytol 3: 199-217, 1974
- 9) Ribeiro-da-Silva A, Coimbra A. Two types of synaptic glomeruli and their distribution in lamina I-III of the rat spinal cord. J Comp Neurol 209: 176-186, 1982
- 10) Ribeiro-da-Silva A, Pignatelli D, Coimbra A. Synaptic architecture of glomeruli in superficial dorsal horn of rat spinal cord, as shown in serial reconstructions. J Neurocytol 14: 203-220, 1985
- 11) De Biasi S, Rustioni A. Glutamate and substance P coexist

- in primary afferent terminals in the superficial laminae of spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85: 7820-7824, 1988
- 12) Hokfelt T, Ljungdahl A, Terenius L, Elde R, Nilsson G. Immunohistochemical analysis of peptide pathways possibly related to pain and analgesia: enkephalin and substance P. *Proc Natl Acad Sci U S A* 74: 3081-3085, 1977
 - 13) Hunt SP, Kelly JS, Emson PC, Kimmel JR, Miller RJ, Wu JY. An immunohistochemical study of neuronal populations containing neuropeptides or gamma-aminobutyrate within the superficial layers of the rat dorsal horn. *Neuroscience* 6: 1883-1898, 1981
 - 14) Cuello AC, Kanazawa I. The distribution of substance P immunoreactive fibers in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 178: 129-156, 1978
 - 15) Hokfelt T, Kellerth JO, Nilsson G, Pernow B. Substance P: localization in the central nervous system and in some primary sensory neurons. *Science* 190: 889-890, 1975
 - 16) Wiesenfeld HZ, Hokfelt T, Lundberg JM, Forssmann WG, Reinecke M, Tschopp FA, Fischer JA. Immunoreactive calcitonin gene-related peptide and substance P coexist in sensory neurons to the spinal cord and interact in spinal behavioral responses of the rat. *Neurosci Lett* 52: 199-204, 1984
 - 17) Ju G, Hokfelt T, Brodin E, Fahrenkrug J, Fischer JA, Frey P, Elde RP, Brown JC. Primary sensory neurons of the rat showing calcitonin gene-related peptide immunoreactivity and their relation to substance P-, somatostatin-, galanin-, vasoactive intestinal polypeptide- and cholecystokinin-immunoreactive ganglion cells. *Cell Tissue Res* 247: 417-431, 1987
 - 18) Alvarez FJ, Priestley JV. Ultrastructure of somatostatin-immunoreactive nerve terminals in laminae I and II of the rat trigeminal subnucleus caudalis. *Neuroscience* 38: 359-371, 1990
 - 19) Alvarez FJ, Priestley JV. Anatomy of somatostatin-immunoreactive fibres and cell bodies in the rat trigeminal subnucleus caudalis. *Neuroscience* 38: 343-357, 1990
 - 20) Ribeiro-da-Silva A, Cuello AC. Ultrastructural evidence for the occurrence of two distinct somatostatin-containing systems in the substantia gelatinosa of rat spinal cord. *J Chem Neuroanat* 3: 141-153, 1990
 - 21) Hokfelt T, Elde R, Johansson O, Luft R, Nilsson G, Arimura A. Immunohistochemical evidence for separate populations of somatostatin-containing and substance P-containing primary afferent neurons in the rat. *Neuroscience* 1: 131-136, 1976
 - 22) Ch'ng JL, Christofides ND, Anand P, Gibson SJ, Allen YS, Su HC, Tatemoto K, Morrison JF, Polak JM, Bloom SR. Distribution of galanin immunoreactivity in the central nervous system and the responses of galanin-containing neuronal pathways to injury. *Neuroscience* 16: 343-354, 1985
 - 23) Lindh B, Lundberg JM, Hokfelt T. NPY-, galanin-, VIP/PHI-, CGRP- and substance P-immunoreactive neuronal subpopulations in cat autonomic and sensory ganglia and their projections. *Cell Tissue Res* 256: 259-273, 1989
 - 24) Todd AJ, McKenzie J. GABA-immunoreactive neurons in the dorsal horn of the rat spinal cord. *Neuroscience* 31: 799-806, 1989
 - 25) Todd AJ, Spike RC, Russell G, Johnston HM. Immunohistochemical evidence that Met-enkephalin and GABA coexist in some neurones in rat dorsal horn. *Brain Res* 584: 149-156, 1992
 - 26) Ribeiro-da-Silva A, Coimbra A. Neuronal uptake of ^3H GABA and ^3H glycine in laminae I-III (substantia gelatinosa Rolandi) of the rat spinal cord. An autoradiographic study. *Brain Res* 188: 449-464, 1980
 - 27) Barber RP, Vaughn JE, Roberts E. The cytoarchitecture of GABAergic neurons in rat spinal cord. *Brain Res* 238: 305-328, 1982
 - 28) Todd AJ, Sullivan AC. Light microscope study of the coexistence of GABA-like and glycine-like immunoreactivities in the spinal cord of the rat. *J Comp Neurol* 296: 496-505, 1990
 - 29) Seybold VS, Elde RP. Neurotensin immunoreactivity in the superficial laminae of the dorsal horn of the rat: I. Light microscopic studies of cell bodies and proximal dendrites. *J Comp Neurol* 205: 89-100, 1982
 - 30) Miller KE, Seybold VS. Comparison of met-enkephalin-, dynorphin A-, and neurotensin-immunoreactive neurons in the cat and rat spinal cords: I. Lumbar cord. *J Comp Neurol* 255: 293-304, 1987
 - 31) Villar MJ, Cortes R, Theodorsson E, Wiesenfeld HZ, Schalling M, Fahrenkrug J, Emson PC, Hokfelt T. Neuropeptide expression in rat dorsal root ganglion cells and spinal cord after peripheral nerve injury with special reference to galanin. *Neuroscience* 33: 587-604, 1989
 - 32) Jessell T, Tsunoo A, Kanazawa I, Otsuka M. Substance P: depletion in the dorsal horn of rat spinal cord after section of the peripheral processes of primary sensory neurons. *Brain Res* 168: 247-259, 1979
 - 33) Villar MJ, Wiesenfeld HZ, Xu XJ, Theodorsson E, Emson PC, Hokfelt T. Further studies on galanin-, substance P-, and CGRP-like immunoreactivities in primary sensory neurons and spinal cord: effects of dorsal rhizotomies and sciatic nerve lesions. *Exp Neurol* 112: 29-39, 1991
 - 34) Johnson EMJ, Rich K. M., Yip H. K. The role of NGF in sensory neurons in vivo. *Trends Neurosci* 9: 33-37, 1986
 - 35) Fitzgerald M, Wall PD, Goedert M, Emson PC. Nerve growth factor counteracts the neurophysiological and neurochemical effects of chronic sciatic nerve section. *Brain Res* 332: 131-141, 1985
 - 36) Wong J, Oblinger MM. NGF rescues substance P expression but not neurofilament or tubulin gene expression in axotomized sensory neurons. *J Neurosci* 11: 543-552, 1991
 - 37) Woolf CJ, Reynolds ML, Molander C, O'Brien C, Lindsay RM, Benowitz LI. The growth-associated protein GAP-43 appears in dorsal root ganglion cells and in the dorsal horn of the rat spinal cord following peripheral nerve injury. *Neuroscience* 34: 465-478, 1990
 - 38) Takeichi M. Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 251: 1451-1455, 1991
 - 39) Shimamura K, Takahashi T, Takeichi M. E-cadherin expression in a particular subset of sensory neurons. *Dev Biol*

152: 242-254, 1992

- 40) Uchiyama N, Hasegawa M, Yamashita T, Yamashita J, Shimamura K, Takeichi M. Immunoelectron microscopic localization of E-cadherin in dorsal root ganglia, dorsal root and dorsal horn of postnatal mice. *J Neurocytol* 23: 460-468, 1994
- 41) Hasegawa M, Seto A, Uchiyama N, Kida S, Yamashita T, Yamashita J. Localization of E-cadherin in peripheral glia after nerve injury and repair. *J Neuropathol Exp Neurol* 55: 424-434, 1996
- 42) Shirayoshi Y, Nose A, Iwasaki K, Takeichi M. N-Linked oligosaccharides are not involved in the function of a cell-cell binding glycoprotein E-cadherin. *Cell Struct Funct* 11: 245-252, 1986
- 43) Hirano S, Kimoto N, Shimoyama Y, Hirohashi S, Takeichi M. Identification of a neural alpha-catenin as a key regulator of cadherin function and multicellular organization. *Cell* 70: 293-301, 1992
- 44) Swett JE, Woolf CJ. The somatotopic organization of primary afferent terminals in the superficial laminae of the dorsal horn of the rat spinal cord. *J Comp Neurol* 231: 66-77, 1985
- 45) Abbadié C, Brown JL, Mantyh PW, Basbaum AI. Spinal cord substance P receptor immunoreactivity increases in both inflammatory and nerve injury models of persistent pain. *Neuroscience* 70: 201-209, 1996
- 46) Dubner R, Ruba MA. Activity-dependent neuronal plasticity following tissue injury and inflammation. *Trends Neurosci* 15: 96-103, 1992
- 47) Ozawa M, Ringwald M, Kemler R. Uvomorulin-catenin complex formation is regulated by a specific domain in the cytoplasmic region of the cell adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 4246-4250, 1990
- 48) Knudsen KA, Soler AP, Johnson KR, Wheelock MJ. Interaction of alpha-actinin with the cadherin/catenin cell-cell adhesion complex via alpha-catenin. *J Cell Biol* 130: 67-77, 1995
- 49) Ozawa M, Baribault H, Kemler R. The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species. *Embo J* 8: 1711-1717, 1989
- 50) Herrenknecht K, Ozawa M, Eckerskorn C, Lottspeich F, Lenter M, Kemler R. The uvomorulin-anchorage protein alpha catenin is a vinculin homologue. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 9156-9160, 1991
- 51) Nagafuchi A, Takeichi M, Tsukita S. The 102 kd cadherin-

associated protein: similarity to vinculin and posttranscriptional regulation of expression. *Cell* 65: 849-857, 1991

- 52) Fitzgerald M, Woolf CJ, Gibson SJ, Mallaburn PS. Alterations in the structure, function and chemistry of C fibers following local application of vinblastine to the sciatic nerve of the rat. *J Neurosci* 4: 430-441, 1984
- 53) Knyhár E, Csillik B. Effect of peripheral axotomy on the fine structure and histochemistry of Rolando substance: degenerative atrophy of central processes of pseudounipolar cells. *Exp Brain Res* 26: 73-87, 1976
- 54) Castro-Lopes JM, Coimbra A, Grant G, Arvidsson J. Ultrastructural changes of the central scalloped (C₁) primary afferent endings of synaptic glomeruli in the substantia geratinosa Rolandi of the rat after peripheral neurotomy. *J Neurocytol* 19: 329-337, 1990
- 55) Devor M, Claman D. Mapping and plasticity of acid phosphatase afferents in the rat dorsal horn. *Brain Res* 190: 17-28, 1980
- 56) Seltzer Z, Devor M. Effect of nerve section on the spinal distribution of neighboring nerves. *Brain Res* 306: 31-37, 1984
- 57) Molander CE, Kinnman E, Aldskogius H. Expansion of spinal cord primary sensory afferent projection following combined sciatic nerve resection and saphenous nerve crush. *J Comp Neurol* 276: 436-441, 1988
- 58) Richardson PM, Issa VM. Peripheral injury enhances central regeneration of primary sensory neurons. *Nature* 309: 791-793, 1984
- 59) Bonfanti L, Olive S, Poulain DA, Theodosis DT. Mapping of the distribution of polysialylated neural cell adhesion molecule throughout the central nervous system of the adult rat: an immunohistochemical study. *Neuroscience* 49: 419-436, 1992
- 60) Seki T, Arai Y. Highly polysialylated NCAM expression in the developing and adult rat spinal cord. *Dev Brain Res* 73: 141-145, 1993
- 61) Oumesmar BN, Vignais L, Duhamel CE, Avellana AV, Rougon G, Baron VEA. Expression of the highly polysialylated neural cell adhesion molecule during postnatal myelination and following chemically induced demyelination of the adult mouse spinal cord. *Eur J Neurosci* 7: 480-491, 1995
- 62) Hatta K, Takeichi M. Expression of N-cadherin adhesion molecules associated with early morphogenetic events in chick development. *Nature* 320: 447-449, 1986

The Significance of E-cadherin and its Associated Cytoplasmic Protein α N-catenin in Adult Mouse Primary Sensory Neurons Following Peripheral Axotomy Akira Seto, Department of Neurosurgery, Kanazawa University School of Medicine, Kanazawa 920—J. J. J. Med Soc., **106**, 33—43 (1997)

Key words α N-catenin, E-cadherin, mouse sensory neuron, nerve growth factor, peripheral nerve injury

Abstract

The effects of peripheral axotomy on the expression of E-cadherin and a cadherin-associated cytoplasmic protein α N-catenin in the spinal cord were examined. E-cadherin is known to have an exclusively localized expression in the lamina II of Rexed in the spinal cord dorsal horn. This expression disappeared by Day 7 after axotomy, and did not recover until Day 35. On Day 63, E-cadherin reappeared following nerve ligature (partial axonal regeneration model), whereas it remained below the level of detection following nerve clipping (complete degeneration model). Alpha N-catenin was diffusely expressed in the gray matter, with enhanced immunoreactivity in the central canal and in the superficial dorsal horn. The localized expression of α N-catenin in the superficial dorsal horn had fallen to the same level as other part of the gray matter by Day 7 after axotomy. This reduced expression in the superficial dorsal horn had recovered by Day 63 following nerve ligature, whereas it remained at the reduced level following nerve clipping. The temporal profile of alteration of α N-catenin immunoreactivity was consistent with that of E-cadherin. Immunoblot analysis for E-cadherin showed no reduction either in dorsal roots or in DRG homogenates following peripheral axotomy. Administration of NGF rescued the immunoreactivity of neurotransmitter substance P which is known to disappear after peripheral axotomy, but did not influence the immunoreactivity of both E-cadherin or α N-catenin in the superficial dorsal horn after peripheral axotomy. These results clearly showed that peripheral axotomy simultaneously alters the immunoreactivity of E-cadherin and α N-catenin in the spinal cord, suggesting a correlation in the expression of both E-cadherin and α N-catenin *in vivo*. Some signals from the periphery other than NGF would be indispensable for the expression of the both molecules. E-cadherin and α N-catenin complex probably plays an important role in plasticity of the spinal cord dorsal horn after peripheral axotomy.