

## 虚血耐性現象の神経細胞保護メカニズム

渡辺めぐみ<sup>1,2</sup> 桂 研一郎<sup>1</sup> 大澤 郁朗<sup>2</sup> 太田 成男<sup>2</sup> 片山 泰朗<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 日本医科大学神経・腎臓・膠原病リウマチ内科部門

<sup>2</sup> 日本医科大学大学院医学研究科加齢科学系専攻細胞生物学分野

## Neuroprotecting Mechanisms of Ischemic Preconditioning

Megumi Watanabe<sup>1,2</sup>, Ken-ichiro Katsura<sup>1</sup>, Ikuroh Ohsawa<sup>2</sup>,

Shigeo Ohta<sup>2</sup> and Yasuo Katayama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurology, Nephrology and Rheumatology, Nippon Medical School

<sup>2</sup>Department of Biochemistry and Cell Biology, Institute of Development and Aging Sciences, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

(a) control

(b) OGD

(c) PC+OGD

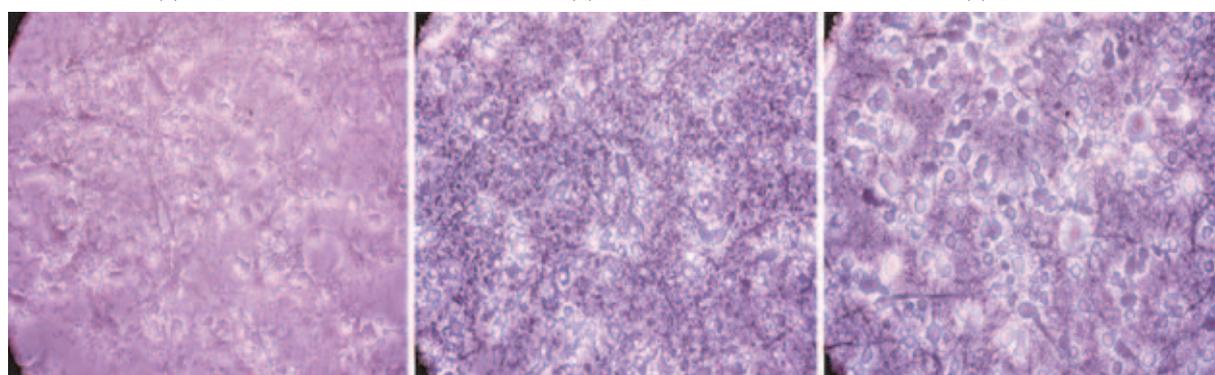


Fig. 1

**解説** 虚血耐性現象とは、短時間の虚血などの致死に至らないストレスをあらかじめ加えることで、死に至るような虚血に対して耐性を獲得した結果、障害が軽度となることをいう。一過性脳虚血発作を起こした患者は、その後脳梗塞を発症しても梗塞巣が小さく、臨床症状も軽いことが報告されている。こうした虚血耐性現象の存在は、脳、心臓をはじめ複数の臓器で証明されている。

意図的に虚血耐性現象を起こすことができるなら、脳梗塞を発症する危険性の高い患者に耐性を獲得するような処置をあらかじめ施すことで、実際に脳梗塞が発生してしまった際の傷害を軽度なものにする可能性がある。

ラット大脳皮質初代培養神経細胞を一定時間無酸素無糖条件（OGD）下に置くことで誘導される神経細胞死の系でも同様の現象を観察することができる。あらかじめ短時間の無酸素無糖状態に細胞を曝すと保護メカニズムが発現し神経細胞死が抑制された。この時、脳梗塞で活性化されることが知られているアストロサイトについてもその活性化が抑制されていた。したがって、この系を用いることで脳における虚血耐性獲得機構が解明されるものと期待している。

**図の解説** 16日齢のラット胎児から調製した大脳皮質初代培養神経細胞を用いた。切除した大脳皮質を酵素処理することで細胞を分散し、あらかじめグリア細胞を培養して得られた conditioned medium に懸濁した。ポリ-L-リジンでコーティングした培養ディッシュに1平方cmあたり $5 \times 10^4$ 個となるように細胞を撒き、37°Cで8日間培養した。ブドウ糖を含まない培地に交換して無酸素状態（95% 窒素/5% 二酸化炭素）で10分間インキュベートし交換前

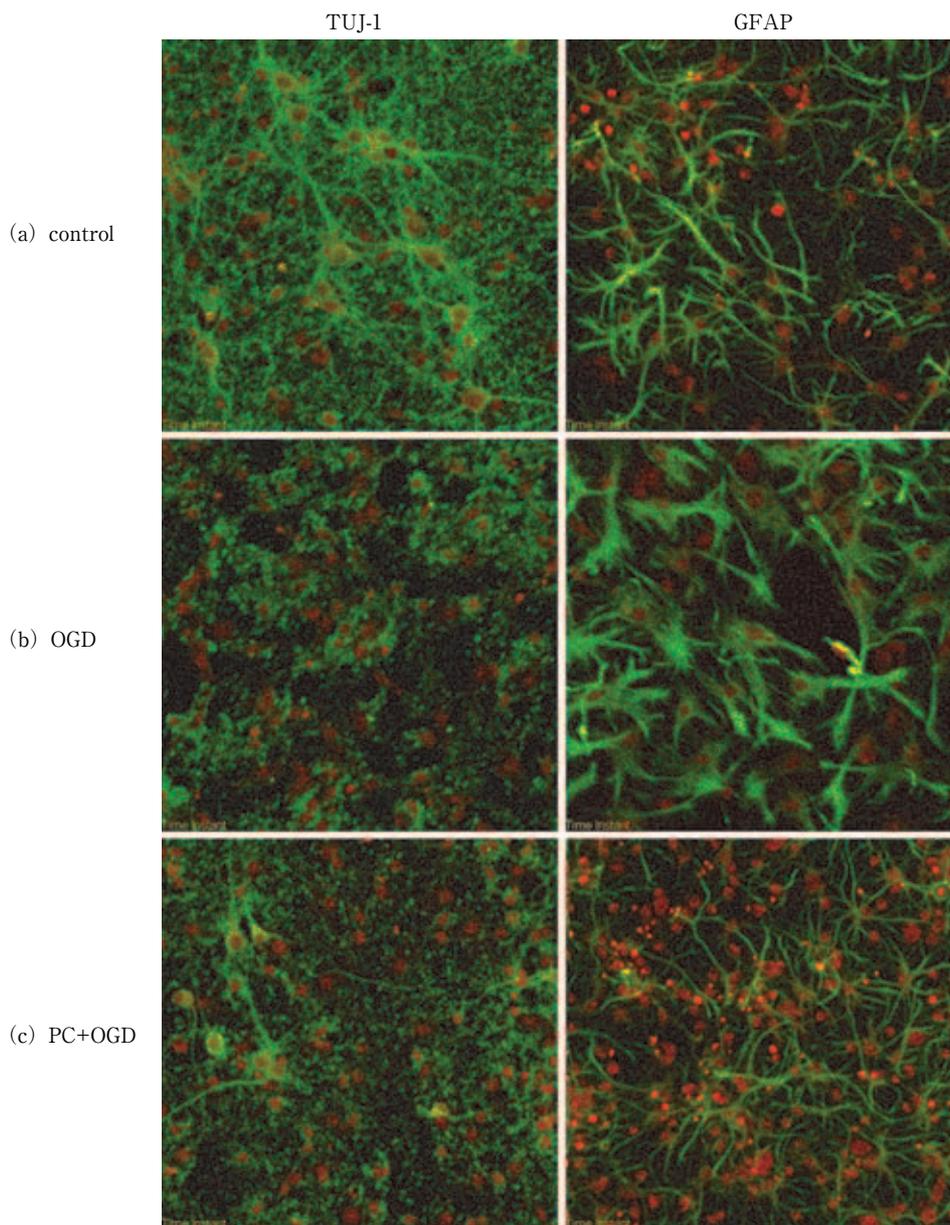


Fig. 2

の培地に戻すことで、致死に至らないストレス(PC)を細胞に与えた。24時間培養した後、再びブドウ糖を含まないDMEM培地に交換して無酸素条件で120分インキュベートし交換前の培地に戻すことで、致死的なストレス(OGD)を細胞に与え、さらに24時間培養した。Fig. 1には位相差顕微鏡像を示す。さらに細胞をパラホルムアルデヒドで固定、免疫染色した(Fig. 2)。神経細胞のマーカとして抗TUJ-1抗体、アストロサイトのマーカとして抗GFAP抗体、核のマーカとしてヨウ化プロピジウム(PI)を用いた。

Fig. 1, 2 (a) OGD未処置のcontrol.

Fig. 1, 2 (b) OGD処理した初代培養細胞。無酸素無糖条件では神経細胞が減少しており、アストロサイトの活性化がみられる。

Fig. 1, 2 (c) 無酸素無血糖条件で10分間培養(PC)し、さらに24時間後にOGD処理した初代培養細胞。神経細胞の減少がOGDのみの場合と比べて抑制されており、細胞死に対する耐性を獲得したことがわかる。また、アストロサイトの活性化も抑制された。