

氏 名 井 村 徹 也
 学位(専攻分野) 博 士 (医 学)
 学 位 記 番 号 医 博 第 2224 号
 学位授与の日付 平 成 12 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
 研究科・専攻 医 学 研 究 科 脳 統 御 医 学 系 専 攻
 学位論文題目 Differential expression of small heat shock proteins in reactive astrocytes after focal ischemia: possible role of beta adrenergic receptor.
 (局所脳虚血後の反応性星状細胞における低分子量ストレス蛋白質の発現解離とベータ型アドレナリン作動性受容体の役割に関する研究)

論文調査委員 (主 査)
 教 授 永 田 和 宏 教 授 橋 本 信 夫 教 授 柴 崎 浩

論 文 内 容 の 要 旨

(目的) 様々な脳侵襲にさいして星状細胞 (astrocyte) が反応性変化を呈することが知られている。この反応性星状細胞 (reactive astrocyte) は神経細胞の生存・再生に大きな役割を果たしていると考えられるが、その形成機序は不明な点が多い。本研究では、細胞分化・アポトーシスに関与すると考えられる低分子量ストレス蛋白質 (small HSP) に着目し、その発現変化及び発現調節機構についてラット一過性局所脳虚血モデルおよび培養グリア細胞を用いて検討を行った。

(方法) 成体ラットの中大脳動脈を栓子法により閉塞、2 時間後に栓子を除去し再灌流を行った後各時間に脳を摘出し、2 種類の small HSP, HSP 27 及び alpha B-crystallin (α BC) の発現をウェスタンブロット法及び免疫組織染色法により検討した。また培養グリア細胞に化学的虚血ストレスを加え、small HSP の発現調節機構について解析を行った。

(結果) 1) 健常脳においては HSP 27, α BC 共に低発現であった。一過性脳虚血後 22 時間より虚血半球において HSP 27 の誘導が観察され、46 時間後に最大となり 7 日後まで高発現が持続した。一方、 α BC の発現はこの間有意の変化を示さなかった。2) 健常脳切片では HSP 27 の免疫染色性はみられず、一方 α BC は希突起膠細胞 (oligodendrocyte) において発現がみられた。脳虚血後、梗塞巣周囲に強い HSP 27 の免疫染色性が観察され、神経膠原繊維酸性蛋白質 (GFAP) との二重染色にて反応性星状細胞における高発現が確認された。HSP 27 陽性反応性星状細胞は梗塞中心を除く虚血半球から一部対側半球に瀰漫性に分布していた。一方、虚血後に α BC 陽性の反応性星状細胞も観察されたが、梗塞周囲に局限し HSP 27 陽性細胞に比して遙かに少数であった。3) ラット C6 神経膠腫細胞は定常培養下では HSP 27, α BC の発現は共に検出感度以下であったが、化学的虚血負荷により両者とも同様に発現誘導がみられた。一方、ラット初代培養星状細胞は定常培養下で HSP 27, α BC が共に比較的豊富に発現していたが、同じく化学的虚血負荷により両者の発現増加が観察された。このように培養細胞においては 2 種類の small HSP が虚血ストレスにより同様に誘導された。4) 培養細胞における化学的虚血負荷による small HSP の誘導は、ベータ型アドレナリン作動性受容体 (β AR) の同時刺激により、HSP 27 の発現増強、 α BC の発現低下という相反する作用がみられた。 β AR の刺激は同時に、多数の突起を伸長させるという培養細胞の形態変化をもたらした。さらにこの突起は強い HSP 27 の免疫染色性を呈し、一方 α BC は核周辺の細胞体に偏在していた。また β AR の刺激は培養細胞の増殖を抑制した。5) 抗 β 1 AR, 抗 β 2 AR 抗体を用いた免疫組織染色では、健常脳において β 1 AR, β AR は神経細胞に局在していたが、虚血後の反応性星状細胞において強い β 2 AR の発現が観察された。

(結論) 本研究により、虚血後の反応性星状細胞において 2 種類の small HSP, HSP 27 と α BC の発現に解離がみられ、これが PAR を介した発現修飾を受けていることが明らかとなった。さらに β AR は星状細胞の形態および増殖を調節することが示された。HSP 27 は細胞骨格蛋白質の機能調節を介して細胞の形態・増殖能を変化させることが知られ、星状細胞における β AR による small HSP の発現変化が、反応性星状細胞の形成機構に重要な役割を果たすことを示唆する知見と考え

られた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、脳虚血侵襲における反応性星状細胞の形成機序の解明を目的として、細胞機能制御分子である低分子量ストレス蛋白質 (small HSP) に注目し、反応性星状細胞における発現変化及びその発現調節機構を検討したものである。栓子挿入法による2時間の中大脳動脈閉塞により作製したラット脳梗塞モデルを用いた検討で、虚血脳に出現する反応性星状細胞において、small HSPの一つであるHSP 27の発現が広範囲に誘導される一方、そのfamilyであるalpha B crystallin (α BC) はごく少数の反応性星状細胞においてのみその発現が観察され、両者の発現には解離がみられた。また反応性星状細胞においてはベータ型アドレナリン作動性受容体 (β AR) の免疫染色性が増加していた。さらに培養グリア細胞を用いた検討では、 β ARを介した刺激が2種類のsmall HSPの発現を変化させ、同時に細胞の形態変化・増殖能の抑制をもたらすことが観察された。これらの結果から、脳虚血後の反応性星状細胞において β ARがsmall HSPの発現を調節し、さらに反応性星状細胞に特徴的な形態変化や増殖といった機能制御に関与していることが示された。

以上の研究は、脳虚血後における反応性星状細胞の形成機序の解明に寄与し、脳虚血に対する新たな治療法の可能性を与えるものである。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年1月31日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。