

## 学位論文の内容の要旨

専攻	機能構築医学	部門	神経構造学
学籍番号	12D709	氏名	丸山 恵美
論文題目	Ryanodine receptors contribute to the induction of ischemic tolerance.		
(論文要旨)			
<p>脳、肺、心臓などの臓器において、あらかじめ細胞死が起こらない程度の虚血ストレスを負荷すると (ischemic preconditioning; IPC)、その後致死的な虚血ストレスを受けても細胞死が軽減されるという現象が起こる。このとき細胞は虚血耐性 (ischemic tolerance; IT) を獲得していると考えられている。一方、虚血性脳細胞障害の原因の一つとして、シナプス間での過剰なグルタミン酸放出とその後の細胞内 <math>Ca^{2+}</math> の上昇が指摘されている。我々は、脳神経の IT の獲得機構においても <math>Ca^{2+}</math> 濃度の変化が関連しているとする仮説のもと、細胞内 <math>Ca^{2+}</math> 放出チャンネルであるリアノジン受容体 (ryanodine receptor; RyR) の関与を調べた。</p> <p>まず、スナネズミの総頸動脈閉塞モデルを用いて、海馬 CA1 領域の錐体細胞数および自発行動量の変化を測定することで IPC の効果を評価した。スナネズミは両側総頸動脈を 5 分間閉塞 (本虚血) することによって CA1 錐体細胞が 9 割以上死滅し、施術後覚醒からの 24 時間の総自発行動量は 3.6 倍に増加する。しかし、その 3 日前に 2 分間の閉塞をあらかじめ施す (IPC) ことによって IT が獲得され、CA1 領域の錐体細胞は 60% が生き残り、自発行動量の増加は 1.8 倍までに抑制された。一方、RyR のアンタゴニストであるダントロレンをあらかじめ IPC 施術前に投与しておく、錐体細胞の生存率は IPC を施していない群と同程度にまで減少し、自発行動量も増加、つまり IT の獲得が認められなかった。一方、1 分間の IPC では IT は獲得されないが、このとき RyR のアゴニストであるカフェインを前投与しておく、その後の 5 分間の本虚血に対して錐体細胞の生存率は 50% 程度有意に上昇し、自発行動量は対照群とほぼ同程度まで減少、つまり IT の獲得が促進された。</p> <p>さらに、ラットの胎児から摘出した海馬神経細胞の初代培養細胞に対して oxygen-glucose deprivation (OGD) を行うことで虚血状態を再現した。細胞の傷害度は生細胞数および乳酸脱水素酵素 (LDH) を測定することで評価した。この培養系を使った疑似虚血モデルにおいても <i>in vivo</i> 実験と同様に 10 分間の OGD (preconditioning; PC) 時にダントロレンおよび高濃度のリアノジンを前投与しておく、翌日の 2 時間の OGD によって生細胞数は濃度依存的に減少し、LDH は増加した。すなわち PC の際に RyR をブロックすることで IT 獲得が抑制された。これらのことから、神経細胞において虚血ストレスによる IT が獲得される機構には RyR が何らかの機能的役割を担っていることが考えられる。</p>			

また、IT は IPC 後一定期間保持されるが徐々にその効果は消失することから、この培養細胞の系で RyR の発現量をウェスタンブロットおよび RT-PCR にて調べた。RyR の蛋白量および mRNA 量はいずれも IT が発現している時は減少しているが、IT の減弱時期に一致して回復傾向が見られた。RyR は虚血時の細胞内  $Ca^{2+}$  上昇に関与することから、RyR の発現量の低下が致死的虚血ストレス時の過剰な細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の上昇を減弱させ、それが神経細胞死の抑制、つまり虚血耐性を発現する一因となっている可能性が考えられる。

以上のことから、RyR は脳の虚血耐性獲得および維持において重要な役割を担っていることが示唆された。

掲載誌名	Brain Research Bulletin		第 122 巻, 第 号
(公表予定) 掲載年月	2016 年 2 月	出版社(等)名	Elsevier
Peer Review	有 <input checked="" type="radio"/> 無 <input type="radio"/>		

(備考) 論文要旨は、日本語で 1, 500 字以内にまとめてください。