

論 文 要 旨

鹿児島大学

Preconditioning exercise reduces brain damage and neuronal apoptosis through enhanced endogenous 14-3-3 γ after focal brain ischemia in rats

脳梗塞発症前運動は、ラットの局所脳虚血後、内在性14-3-3 γ の増強を介して脳損傷および神経細胞のアポトーシスを減少させる

氏 名 大塚 章太郎

【はじめに】

脳梗塞は、世界中において病死や長期間の病的な状態を引き起こす原因のひとつである。Preconditioningは、あらかじめ軽い虚血を引き起こし、虚血による損傷に対して細胞や臓器を保護することができる内在性の戦略である。運動においても神経保護効果を獲得することが報告されており、そのメカニズムには、内因性保護因子が活性化されることが示されている。細胞内には内在性保護因子が存在し、それらは脳虚血などの病態から細胞を保護するために活性化される。14-3-3 γ は、虚血性細胞死からの大脳皮質ニューロンにおける重要な初期虚血誘導性保護因子である。本研究では、内因性保護因子の中から転写因子の一つであるHIF-1 α 、内因性保護タンパクである14-3-3 γ に着目し、定期的な運動介入によるニューロンとアストロサイトを介した脳虚血耐性の獲得と脳梗塞後の神経保護メカニズムについて調べた。

【対象と方法】

7週齢の雄性SDラット34匹を用い、3週間のトレッドミル運動群 (Ex-only群、n=6)、運動後に脳梗塞を作製する群(Ex群、n=11)、運動介入せず脳梗塞を作製する群(No-Ex群、n=11)、正常対照群(control群、n=6)、の4群に分類した。トレッドミル運動は25m/minで30分/日、週5回行った。No-Ex群とcontrol群はゲージ内で3週間自由飼育した。運動終了後に60分間の虚血と再灌流障害により脳梗塞を作製し、脳梗塞作製48時間後に神経学的所見や運動機能評価を行い、脳を採取した。その後、TTC染色を行い脳梗塞巣の体積を測定した。低酸素マーカーであるHIF-1 α 、内在性保護タンパクのマーカーである14-3-3 γ 、p- β -catenin Ser37、プリン受容体のマーカーであるP2RX7、活性化アストロサイトのマーカーであるGFAP、神経細胞のマーカーであるNeuN、アポトーシスに関与するBax、caspase 3の発現を免疫組織化学染色及びWestern blotting法を用いて調べた。また、NeuNとcaspase 3との二重免疫蛍光染色を行い、caspase 3と共染色していないNeuNをカウントし、生存しているニューロンの割合を調べた。

【結果】

3週間のトレッドミル運動介入による脳内変化に関して、Ex-only群のHIF-1 α と14-3-3 γ の発現が有意に増加しており、神経細胞やアストロサイト上で発現が観察された。アストロサイト上では、P2X7Rが発現しており、運動によって虚血耐性が獲得された。脳梗塞作成後には、Ex群の脳梗塞巣の体積がNo-Ex群と比べて有意に小さく、神経行動学的評価では有意に改善していた。脳梗塞発症後には、No-Ex群に比べ、Ex群でHIF-1 α 、P2X7R、14-3-3 γ の発現量が有意に増加していた。さらに、14-3-3 γ の増加と関連して、p- β -catenin Ser37も有意に増加していた。一方、Bax、caspase 3の発現はNo-Ex群と比較し、Ex群で有意に減少していた。NeuNとcaspase 3との共染色によって観察した生存しているニューロンの割合は、Ex群で有意に高かった。

【結論】

本研究では、虚血前の運動が内在性の保護因子であるHIF-1 α 及び14-3-3 γ 、P2X7Rの発現を介して脳虚血耐性を誘導することを示唆した。予防運動によって増加した14-3-3 γ は、神経保護機構の1つの基礎をなす14-3-3 γ /p- β -catenin Ser37/Bax/caspase 3の抗アポトーシス経路による神経細胞死を減少させた。その結果、予防運動は脳梗塞後の脳梗塞体積および運動-感覚障害を減少させることを示唆した。