

Title	Activation of ERK 1/2 is associated with Neuronal Survival after Focal Cerebral Ischemia in the Rat.
Sub Title	ERK1/2活性化はラット局所脳虚血後の神経細胞生存に関与する
Author	小堺, 有史(Kosakai, Arifumi)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.8-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0008

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Activation of ERK1/2 is associated with Neuronal Survival after Focal Cerebral Ischemia in the Rat.

(ERK1/2活性化はラット局所脳虚血後の神経細胞生存に参与する)

小 塚 有 史

内容の要旨

脳虚血における extracellular signal-regulated kinase (ERK) signal cascade の役割は未だ議論のあるところである。今回ラット一過性 (90 分間) 中大脳動脈閉塞モデルを用いてリン酸化ERK発現の経時的変化と TUNEL 染色の二重染色による検討を行った。sham 群のリン酸化 ERK 陽性細胞は極少数で染色強度も弱く、TUNEL 陽性細胞は認めなかった。虚血中心部では再灌流開始後30分から3.5時間の間、神経細胞にリン酸化ERKの発現を認めた。虚血周辺部では再灌流開始後3.5時間から24時間の間、生存している神経細胞に持続的にリン酸化ERKの発現が認められた。再灌流開始24時間後の二重染色における検討では、虚血周辺部のリン酸化ERK陽性の神経細胞は虚血中心部の TUNEL 陽性細胞の分布領域と隣接した領域に存在し、これらリン酸化ERK陽性神経細胞はBcl-2陽性であった。以上の結果より、ERKリン酸化を介した情報伝達は、梗塞周辺部で神経保護的に作用している可能性がある。

論文審査の要旨

本研究では、脳虚血における extracellular signal-regulated kinase (ERK) signal cascade の役割につき、ラット一過性 (90分) 中大脳動脈閉塞モデルを用いて、リン酸化ERK発現の経時的変化とアポトーシスの進展の経過を検討した。ラットをコントロール群 (sham 手術群) と虚血・再灌流群に分け、再灌流群では右中大脳動脈を血管内栓子で90分閉塞、その後30分、3.5時間、12時間、24時間、および48時間に再灌流を行った群に分けて検討した。灌流固定後、凍結切片を作成し、抗リン酸化ERK1/2抗体を用いて免疫染色を行った。さらに、連続切片を用いてTUNEL染色およびcresyl violet染色を行い、虚血中心部と周辺部領域において検討した。24時間後再灌流群では抗リン酸化ERK1/2抗体とTUNEL染色、抗リン酸化ERK1/2抗体と抗Bcl-2抗体による2重染色を施行し、同領域組織においてコントロール群と虚血24時間後再灌流群においてWestern blotを行った。その結果、虚血周辺部皮質の神経細胞は、再灌流後3.5時間から24時間にかけてリン酸化ERK1/2陽性であり、これらの細胞は形態が正常に保たれており、かつTUNEL陰性であった。一方、虚血中心部皮質ではリン酸化ERK1/2陽性の細胞は再灌流後30分から12時間にかけて存在し、TUNEL陽性細胞は再灌流24時間以後の初めて出現した。24時間再灌流群におけるWestern blot解析では、ERK1/2のリン酸化は虚血中心部皮質においてコントロール群に比して減弱しているのに対して、虚血周辺部皮質においてはコントロール群に比して増加していた。再灌流開始24時間後においては、虚血周辺部の虚血中心部に隣接した部位では、リン酸化ERK1/2陽性の神経細胞に抗アポトーシス作用のあるBcl-2が陽性であった。以上、ERK1/2のリン酸化と

TUNEL染色の経時的・分布的相異から、ERK1/2を介するシグナルはアポトーシスの誘導に参与せず、さらに虚血周辺部皮質においては神経保護的に作用している可能性が示唆された。

審査では、まずリン酸化ERK1/2の発現部位は神経細胞に特異的であるのかどうか質問された。これに対して本研究および他の関連研究から神経細胞のみではなく星状膠細胞などにおいても発現する可能性があることが説明された。また、リン酸化ERK1/2の発現部位の分析についての質問がなされたが、詳細な分析ではないもの的大脑皮質第5-6層中心に観察された現象であることが説明された。さらに、リン酸化ERK1/2の発現の低下は脳虚血の原因であるのか結果であるのかについて、すなわち神経細胞あたりの蛋白量が減少したのか、あるいは神経細胞が死滅したために全体として減少したのか重要ではないかとの質問がなされた。これについては本研究単独ではこの現象の全貌の解明は困難であるが、ERK阻害実験により明らかになりうる可能性があり、次の研究課題としたいとの回答がなされた。また、ERK1/2のリン酸化は神経保護作用であるのか、神経毒性作用であるかの解釈についての質問がなされたが、虚血後再灌流の時間経過および部位により解釈が一定しない可能性があるが、本研究において設定された条件下と関心領域では神経保護的に作用すると考えられるとの回答がなされた。さらに、ERKのカスケードの上流にあるRasの活性化およびAKTの活性化を伴っているかどうか質問されたが、本研究では確認することはできず次の課題としたいとの回答がなされた。また、組織化学的検討には定量化の概念を導入することが必要であり、同一細胞内での発現の検証には共焦点顕微鏡での詳細な検討による確認が必要であることが指摘された。また、ERKとBcl-2の関係についての質問がなされたが、Bcl-2の発現にはカスケード下流のCREBのリン酸化が関与している可能性が高いと回答された。

以上のように、本研究はさらなる検討あるいは改善すべき点をいくつか残しているが、脳虚血後再灌流による神経細胞障害機序を、ラット一過性中大脳動脈閉塞モデルによりリン酸化ERK1/2の発現の経時的変化とアポトーシスの進展を検討したものであり、脳虚血の病態解明に向けて意義のある研究と評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 鈴木 則宏
外科学 河瀬 斌 生理学 岡野 栄之
解剖学 仲嶋 一範

学力確認担当者：

審査委員長：河瀬 斌

試問日：平成17年 2月25日