慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	脳循環代謝に関する最近の知見：ニューロン：アストロサイト：微小循環のネットワーク
Sub Title	
Author	高橋, 愼一(Takahashi, Shinichi)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.3 (2005. 9) ,p.119- 127
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	講座
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050900-0119

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.

慶應医学・82(3)：119～127，2005

講　座

脳循環代謝に関する最近の知見：ニューロン－アストロサイト－微小循環のネットワーク

慶應義塾大学医学部内科（神経）
高橋慎一（たかはし しんいち）

Key Words：アストログリア，astroglia；グルコース，glucose；グルタミン酸，glutamate；乳酸，lactate；脳血流代謝カップリング，flow-metabolism coupling in the brain

はじめに

障害を受けた脳機能の機能再生を目指す時代が到来している．脳機能の維持と再生の基盤となる脳循環代謝調節におけるニューロン（シナプス）－アストロサイト－微小循環（細動脈と毛細血管）の3者間のネットワークの重要性を提起したい．脳の循環と代謝調節機構は古くて新しい問題である．1950年代に始まったKety，Sokoloffらによる脳循環代謝測定理論の確立と実測から，ヒトの脳がその体重に対する比率（2%）から見て，極めて高いエネルギー消費（全身酸素消費の20%，グルコース消費の25%）を行っていることが知られている．その大部分は，脳の基本的な活動である情報プロセッシング，すなわちアクション・ポテンシャルの発生の母体となるNa^+，K^+イオン濃度勾配の維持に費やされており，Na^+，K^+-ATPaseは安静時のATP消費の約50%を占める．脳が生理学的条件下でエネルギー基質として使用できるのはグルコースのみであり，少なくとも脳の基礎活動時のグルコース代謝はほぼ完全な酸化反応（$C_6H_{12}O_6+6O_2 \rightarrow 6CO_2+6H_2O$）である．すなわち酸素消費率（$CMRO_2=156\ \mu mol/100\ g\ brain/min$）とグルコース消費率（$CMR_{glc}=31\ \mu mol/100\ g\ brain/min$）の比は，理論値である6に近い実測値5.5を示す．脳機能が正常に維持されるためには，神経回路網の正常な構築が維持されることが必須であるが，その機能活動を支えるための正常なエネルギー代謝の保障が前提である[1]．そして脳内には酸素の予備はなく，貯蔵型グルコースともいえるグリコーゲン含量はごくわずかであるため，間断ない脳血流（57 mL/100 g brain/min）による供給が必須となる．脳循環障害そのものが本態である脳血管障害は勿論，近年，アルツハイマー病を例とするようにニューロンの一次変性に病態の主座があると考えられている神経変性疾患においても，脳微小循環障害の関与がクローズアップされている[2]．また，正常脳機能と神経疾患の病態を理解する上で，もう一つ忘れてならないのはグリア細胞の機能であろう[3,4,5]．ヒトの脳にはグリア細胞がニューロンの約10倍存在するとされ，げっ歯類では同数程度，線虫ではニューロンの2分の1とされていることから類推されるように，脳機能が複雑化するに従いグリア細胞機能が相対的に重要となると考えられる．グリア細胞の中でも，特にエネルギー代謝と微小循環調節の面から注目されているのはアストロサイト（アストログリア）である．アストロサイトはヒト大脳灰白質の33%を占め[6]，エネルギーの5-20%を消費する[7]．さらにアストロサイトは，ニューロン（シナプス）と微小血管の間で両者を橋渡しする解剖学的構造を呈し[8]，ヒト大脳灰白質の50%を占め[6]，エネルギーの80-95%を消費するニューロン[7]への酸素，グルコースの供給路として，またシナプス活動を微小循環調節へのフィードバックする構成因子として重要な機能を担っている可能性がある．また，シナプス機能と連動して起こるアストロサイト細胞内のCa^{2+}，そしてNa^+上昇（後述）が，ギャップ・ジャンクションによって連結した多数のアストロサイトによって形成されるシンシチウム内を水面に広がる波紋のように拡大し，ニューロンの機能活動亢進を広く周囲組織に伝達する役割を有していることも明らかになっている．これらのアストロサイトの担うイオン・ホメオスタシスの異常は，片頭痛，てんかん，脳浮腫といった疾患の病態に重要な関与をしている可能性が指摘されている．脳機能の障害メカニズムを考える上でも，

また，正常な脳機能の修復を図る上でも，ニューロン（シナプス）－アストロサイト－微小循環（細動脈と毛細血管）の3者間のネットワークの機能を理解することが重要である．本稿では，このネットワークにおけるアストロサイトの役割を中心とした最近の知見を紹介したい．

歴史的背景

脳が定常状態（steady state）におけるエネルギー産生を好気的グルコース代謝（酸化的リン酸化）に依存していることに疑いの余地はない．しかし，脳機能活動亢進（functional activation）に際したグルコース代謝については異論がある．測定法による時間的また空間的な分解能による制約から，脳代謝のダイナミックな変化を，数μm～数cmかつ，数msec～数minのオーダーで同時にそして連続的に捉えることは現在でも困難であり，断片的に観察された結果の解釈に様々な混乱をきたしている[9]．脳機能活動亢進に際してのエネルギー産生に問題を提起する発端になったのは1980年代後半に発表されたPETを用いた研究の結果による．1986年，FoxとRaichle[10]はPETを用いてヒト体性感覚野における脳血流量（CBF）と脳酸素消費率（$CMRO_2$）を測定し，知覚刺激が29%のCBF増加を惹起したのに対し，$CMRO_2$は5%の増加にとどまったことを報告した．続く1988年，Foxら[11]はヒト視覚野のCBF，$CMRO_2$に加え，脳グルコース消費率（CMR_{glc}）を測定し，視覚刺激においてCMR_{glc}の増加は$CMRO_2$の増加を大きく上回り，結果として酸素／グルコース消費のモル比（$CMRO_2/CMR_{glc}$）は，安静状態の4.1から0.4に減少したことを報告した．これらのデータは脳の機能活動亢進時のグルコース代謝が，従来信じられていたミトコンドリア内の好気的代謝ではなく，細胞質内の嫌気的解糖を主とする証左として大きなインパクトを与えた．これを裏付けるように1991年，Prichardら[12]は，MRスペクトロスコピー（MRS）を用いて，ヒト視覚野において視覚刺激開始6分以内に嫌気的解糖の産物である乳酸産生がピークに達し，次第に減少したことを報告した．後の動物実験からも，一般に脳の機能活動亢進は，$CMRO_2$を上回る一過性の過剰なCMR_{glc}増大を来たし，この時ほとんどの場合で脳内の乳酸（産生）量の増加を伴うことが報告された．この後，一定のタイムラグの後$CMRO_2$は遅れて大きく増大し（$CMRO_2/CMR_{glc} > 6$），おそらく脳内の乳酸を消費することでグルコース代謝の好気的収支を合わせていることもわかってきたが，十分な酸素が得られる環境下で起こる乳酸産生現象，"aerobic glycolysis"をめぐって，現在にいたるまでのこの10余年，様々な議論が活発に続いている．

ニューロンは乳酸をエネルギー基質とするか

元来，in vitroでは培養ニューロン，脳スライスともにグルコースのみならず培養液中に加えられた乳酸をエネルギー基質として使用できることが知られてきた．脳はグルコースを唯一のエネルギー源としているものの，潜在的には乳酸等の解糖系産物，さらにはニューロトランスミッター（後述：グルタミン酸）からもエネルギーを産生し得る．脳が生理的条件下でのエネルギー産生をグルコースのみに依存しているという事実は，血液中から脳内への輸送に際し制限があることを意味するに過ぎない．事実，乳酸の血液脳関門における輸送速度はグルコースの1/10以下である為，通常これを血管内に投与しても脳のエネルギー基質にはならないが，脳スライスや培養ニューロンは培養液中の乳酸のみで生存可能である．1994年，PellerinとMagistretti[13]はグルタミン酸刺激により培養アストログリアが，グルコース消費増加とともにこれに連動して乳酸産生を増大させ培養液中に放出することを報告した．機能活動亢進に伴い，興奮性ニューロトランスミッターであり脳内のシナプスの90%を占めるとされるグルタミン酸作動性ニューロンからグルタミン酸が放出される．シナプス間隙におけるグルタミン酸濃度は約1 mMに達するが，シナプスを包み込むアストロサイトに豊富に存在するNa^+依存性グルタミン酸トランスポーター（GLT-1，GLAST）によって速やかに除去される．その結果，アストロサイトの細胞内Na^+濃度は増加し，Na^+, K^+-ATPase活性の増大を惹起してアストロサイトのエネルギー産生を増大させる[14]．これらのアストロサイトは毛細血管にもendfeetを伸ばしており，グルコース・トランスポーター（GLUT1）によってグルコースを取り込み，その後アストロサイト細胞質内の解糖系で産生されたピルビン酸は，アストロサイトに発現するLDH-5型（骨格筋型）アイソザイムによって効率よく乳酸に変換され（aerobic glycolysis），乳酸はモノカルボン酸・トランスポーター（MCT1＆4）によってアストロサイト細胞外に放出される．近傍にあるニューロン（シナプス）はここに選択的に発現するモノカルボン酸・トランスポーターのうち高親和型サブタイプ（MCT2）によってこれを取り込み，LDH-1型（心筋型）アイソザイムによって再びピルビン酸に戻された後，ミトコンドリア内の酸化的リン酸化によってエネルギーを得るという仮説が提唱され

た[15, 16, 17, 18, 19]（ANLSH：astrocyte-neuron lactate shuttle hypothesis）．さらに，アストロサイトに取り込まれたグルタミン酸はアストロサイトに特異的な酵素であるグルタミン合成酵素によりグルタミンに転換され，ニューロンにリサイクル・バックされる（グルタミン酸－グルタミン　サイクル）．1998年Sibsonら[20]は^{13}C-NMRを用いて^{13}C-グルコース投与後のラットの脳におけるグルタミン酸のリサイクルとグルコース消費を定量し，1分子のグルタミン酸のアストロサイトへの取り込みが，1分子のグルコースの消費と一致して起こることを報告した．元来，Na^+依存性グルタミン酸トランポーターは1分子のグルタミン酸とともに3分子のNa^+を取り込み，これに伴って活性化されるNa^+, K^+-ATPaseは1分子のATPを消費することでこの3分子のNa^+を細胞外に排泄，また同時に2分子のK^+を細胞内に取り込む．さらにアストロサイト内の1分子のグルタミン酸からグルタミンへの転換には1分子のATP消費を伴うため，あわせて2分子のATPが消費され，これは1分子のグルコース消費によって解糖系で合成されるATP量に一致し，ANLSHのin vivoにおける証明とした．その後，アンチセンス・ストラテジー[21]や遺伝子的[22]にNa^+依存性グルタミン酸トランスポーターをノックアウトした動物を用いてCMR_{glc}を測定すると，これらのラット，マウスでは，ヒゲ刺激に対する大脳体性感覚野であるbarrel cortexにおけるCMR_{glc}増加反応が正常に比して著明に低下していることが証明されている．ノックアウトマウスが成体ではなく，脳のエネルギー代謝がグルコース以外のケトン体に依存している時期であることから結果の解釈に対する批判はあるが，脳のグルコース消費にアストロサイトのグルタミン酸トランスポーターの関与がある点は否定できない．

ANLSHに対する現在までの批判[23, 24, 25, 26, 27]のポイントと今後明らかにすべきことは，

①ニューロンは機能活動亢進時に際して，エネルギー基質としてグルコースより乳酸を選択的に利用するのか．

②アストロサイトはグルタミン酸のトランスポーター取り込みに際して，aerobic glycolysisによって乳酸産生を増大させるのか．

③時間的，空間的にみて神経機能亢進とこれらの現象の間に有意な関連があるのか，の3点についてである．

グルコース消費の場，つまりグルコースを取り込み，解糖系の第一ステップであるグルコース→グルコース6リン酸への変化が起こる場となるのはニューロピル（前・後シナプスとアストロサイトを合わせた構造：tripartite synapse）部分であることは[^{14}C]deoxyglucose法によるオートラジオグラム解析結果から間違いないが，その局在がニューロンであるか，これを包み込むアストロサイトであるか，あるいはその双方であるかはオートラジオグラムの空間分解能の制約から長らく解決できなかった．ニューロン自体にも特有のグルコース・トランスポーター（GLUT3）が存在するため，細胞外液中に十分な濃度で存在するグルコース（2.5-3.5 mM）を取り込むことには支障はない．機能活動亢進に際して，GLUT1（アストロサイト），GLUT3（ニューロン）による細胞へのグルコースの移送速度はいずれもグルコース消費の律速段階にはなりえず，CMR_{glc}を規定するのは，非刺激状態（resting state）で97%抑制されている解糖系のキー・エンザイムであるヘキソキナーゼによる．また，解糖酵素はニューロンのシナプス部分に豊富に存在し，例えばシナプトソーム分画には脳内ヘキソキナーゼ活性の50%が存在するとされる．グルコースがアストロサイトを介さず直接ニューロンに取り込まれ，ヘキソキナーゼによるリン酸化を受ける可能性は否定できない．2004年に同時に発表された2編の論文によって，少なくとも安静時のグルコース消費の場がin vivoにおけるニューロンとアストロサイトの双方に存在することが証明された．教室のItohら[28]は蛍光色素でラベルしたグルコース・アナログ（2-NBDG）の海馬ニューロン，小脳プルキンエ細胞への直接の取り込みを証明し，Nehligら[29]は，従来の[^{14}C]deoxyglucose法を改変し，β線の軌跡を利用して細胞レベルでの分解能を得た特殊なオートラジオグラムと免疫染色の重ねあわせ像から，[^{14}C]deoxyglucose取り込みの60.1%はニューロンのマーカー（MAP2）を示す細胞から，53.0%はアストロサイトのマーカー（GFAP）を示す細胞から得られたこと，すなわち両者でほぼ同等という結果を報告した．しかし，残念なことに，脳の機能活動亢進時のグルコース消費の増大の場がどこにあるかの結論は出ていない．逆に，現時点では神経機能活動亢進に伴うグルコース消費がアストロサイトのみに存在するという証左もない．

さて一方で，ニューロンがグルコースより乳酸を選択的に取り込み，利用するとする根拠には，^{13}Cでラベルした乳酸の脳内での代謝経路を^{13}C-NMRによって追跡した研究がある．3-^{13}C-乳酸の投与後のラット脳内で合成されるグルタミンのC2位とC3位には同程度の^{13}Cラベリングが起こることが観察された．この結果は，ピルビン酸カルボキシラーゼによって生じるはずのC2位有意のラベリング反応がなかったこと，すなわち同酵素が選択的に存在する唯一の細胞群であるアストロサイトによる3-^{13}C-乳酸代謝の関与がなかったこと意味し，

乳酸がニューロンで代謝されたことを示す証左とされた[17]．しかし，この実験結果の解釈にも批判があり，アストロサイト内でもピルビン酸脱水素酵素による乳酸代謝経路や，ピルビン酸カルボキシラーゼによって生じたオキザロ酢酸がフマル酸と速やかに平衡に達することで，グルタミンのC2位とC3位に十分なmixingがおこることが指摘されている．

アストロサイトは嫌気的な細胞か

アストロサイトのグルコース代謝の経路全般に関しても，必ずしも嫌気的解糖のみに依存している訳ではないと考えられている．SilverとEreciński aの総説[30]に従えば，諸家による実測値の平均をもって計算した場合，非刺激状態ではアストロサイトにおけるATP産生114 nmol/min/mg proteinのうち，解糖系由来が30 nmol/min/mg protein，酸化的リン酸化由来が84 nmol/min/mg proteinであり，解糖系が約26%寄与する．哺乳動物の脳全体におけるATP産生において，そのうち解糖系の占める割合が5%未満であることと比較すると，非刺激下におけるアストロサイトのエネルギー産生はglycolytic metabolismであるとも言えるが，74%を占めるoxidative metabolismの関与は無視できないと言わざるを得ない．アストロサイトは培養条件によってエネルギー産生の依存経路が大きく変化し，筆者らの最近のデータ[31]でも，培養液中のグルコース濃度が正常脳内濃度（2 mM)である場合には，ニューロンに比して，約2分の1程度の乳酸酸化率（[^{14}C]lactate→$^{14}CO_2$）や，グルコース酸化率（[^{14}C]glucose→$^{14}CO_2$）を有しているが，グルコース濃度を増加（22 mM）として培養すると，これらは著明に低下しニューロンの約5分の1程度となる．現時点ではアストロサイトがニューロンに比して，グルコースの酸化的代謝では低いものの，決して嫌気性代謝のみに依存しているとは結論できない．神経機能活動が亢進する際にアストロサイトは血管内からグルコースを取り込む以外に，予め細胞内に貯蔵したグリコーゲンを分解し解糖系に合流させて使用している可能性があるため問題はさらに複雑となる．すなわち，ラベルしたCを動物にパルス投与し，これを含む代謝物を測定するだけでは，その時に進んでいる実際の代謝状態の正確な評価は困難である．さらに忘れてならないのは前述のごとく，興奮性ニューロトランスミッターであるグルタミン酸は，アストロサイト内に取り込まれた後，それ自身がαケトグルタル酸に変換され，TCAサイクル内に合流し酸化的代謝によるエネルギー源となりうる点である．1994年のPellerinとMagistrettiらによる報告以降，多くのラボでグルタミン酸負荷時のアストロサイトのCMR_{glc}変化に及ぼす影響が検討されたが，増加，不変，もしくは減少する報告があり一定しない．培養条件によって変化するアストロサイトのoxidative metabolismの差異によって説明できるか否かはっきりしない．筆者自身らの実験では，前述した培養液中のグルコース濃度を2 mMもしくは22 mMとしたいずれの条件においても，グルタミン酸（500 μM）による[^{14}C]deoxyglucoseのリン酸化率の有意な増加反応が認められた．しかし，この時の[^{14}C]lactateや[^{14}C]glucoseの酸化率は大きく抑制され，グルタミン酸自身がアストログリアのoxidative metabolismのエネルギー基質として使用されたことを示唆するものであった．さらに細胞内での非代謝型のグルタミン酸類似物質であるD-アスパラギン酸を用いた[^{14}C]lactate，[^{14}C]glucose酸化率測定では，アストロサイト内での$^{14}CO_2$産生の増大が確認された．現時点ではグルタミン酸の取り込みに必要なエネルギー源がグルコースなのか，グルタミン酸自身なのか，仮にグルコースであるとした場合の代謝経路（glycolysisか，oxidativeか）は不明である．また，細胞内のミトコンドリアの分布を勘案した際には，in vivoにおいてアストロサイトのendfeetやfilopodiaとよばれる毛細血管やシナプスを包み込む細胞の末端部分では細胞質が非常に薄く物理的にミトコンドリアが存在できないため，単一の細胞内でも局所的にaerobic glycolysisに依存せざるを得ないという可能性も考えなければならないだろう．同様に，ニューロンの中でも，一般にシナプス，特にpostsynaptic density（PSD）やdendriteには解糖系酵素が豊富であるが，小脳プルキンエ細胞では解糖系酵素活性が低いといわれているように，単一ニューロン内，あるいはニューロンの種類によってはグルコースよりも乳酸が選択的にそのエネルギー源として使用されている可能性があることも考えなければならない．

行方不明の乳酸

さらに現在もまだ未解決の問題は，脳の機能活動亢進に際して$CMRO_2/CMR_{glc}$比が低下し，グルコース消費（利用）の過亢進が生じた後，$CMRO_2/CMR_{glc}$比は6を超えて増加しても，オーバーオールの$CMRO_2$はCMR_{glc}の増加分を説明するには足らないという事実がある．すなわち，常に脳内では機能活動亢進に伴って酸素消費を超える過剰のグルコースが消費されている．

1999年，Madsenら[32]はラットを用いて感覚刺激時の脳内グルコース代謝関連物質の収支を精密に測定した結果，刺激中，刺激後に脳からの有意な乳酸の出入りはないこと，脳内の乳酸量は増加することを報告した．しかし，この時脳の動静脈の差から算出された脳グルコース消費量の総計はこれを大きく上回っており，乳酸増加総量はそのうちの54%分に過ぎなかった．さらに最近Dienelらはより注意深いプレパレーションの結果，ラットの脳内には従来考えられていた測定量の3-4倍のグリコーゲン貯蔵があることを報告し，この減少量を勘案するとグルコース+グリコーゲンとして消費されている炭水化物はさらに多く，何らかの形（乳酸もしくはそれ以外の中間代謝産物）で，脳内の機能亢進を受けない他の部位に運ばれたと考えざるを得ないという結論に達した．彼らはアストロサイトのシンシチウムを連結するギャップ・ジャンクションに通じて，乳酸が局所から遠隔地に搬出されるのではないかと推定している[26]．また，アストロサイトに発現するアクアポリンは水チャネルとして，脳浮腫発生に重大な役割をもつが，乳酸をはじめとするモノカルボン酸の輸送にも関与している可能性も指摘されている．

アストロサイトによるシナプス・モジュレーション

アストロサイトはシナプス活動に際して，グルタミン酸以外のニューロトランスミッターにも影響を及ぼす[33]．抑制系ニューロトランスミッターであるGABAもアストロサイトのNa^+/Cl^-依存性トランスポーター（GAT1，GAT3，BGT1）によって取り込みを受ける．抑制系のニューロンの活動亢進が脳のエネルギー消費をどのように変化させるかは興味ある問題である．2003年，Chattonら[34]は培養アストロサイトをGABA刺激（500 μM）し，[^{14}C]deoxyglucoseの取り込みに変化はないことを報告し，Na^+感受性蛍光色素を用いて同時測定した細胞内Na^+濃度の上昇反応はグルタミン酸刺激に比して乏しいことから，脳内GABA濃度では細胞内Na^+濃度の上昇が小さくNa^+, K^+-ATPase活性を増大させるには至らないためであろうと推論した．また，細胞内Na^+イオンの増加反応はアストロサイトのエネルギー代謝に大きな影響を与える因子であるが，アストロサイトのシンシチウムを伝播するCa^{2+} waveと関連して注目されている．1990年にCornell-Bellら[35]はアストロサイト刺激が細胞内Ca^{2+}上昇を惹起し，これが複数のアストロサイトからなるシンシチウム内を波状に伝播する現象を報告したが，これはアストロサイトによる情報伝達がアストロサイトネットワークを介して，遠隔の細胞に及ぶことを示唆する．2004年にBernardinelliら[36]は細胞内Na^+上昇も同様にシンシチウム内を波状に伝播して広がる現象を報告し，アストロサイトのシンシチウム内でエネルギー消費を規定するシグナルとしての意味を提案している．また，アストロサイトは細胞外K^+濃度調節にも重要な役割を担っている．後述するように，アストロサイト・シンシチウムによるK^+ siphoning仮説（後述）は，既に1980年代にシナプス機能と血管拡張をつなぐ理論的メカニズムとして提唱されたが，測定の困難さから現時点でも実証されていない．これ以外にもアストロサイトから放出されシナプス機能に影響を与える可能性のある物質として，D-セリンやアセチルコリン結合タンパク等が報告されており，前者はグルタミン酸NMDA受容体の調節機構として，後者は哺乳類ではまだ証明されていないが，いずれもエネルギー代謝や，脳循環調節との関連については全く検討されていない．グルタミン酸の機能として，アストロサイトに発現する代謝型グルタミン酸受容体への作用は，これから述べるアストロサイトを介した血管調節機構で論じる．

アストロサイトの脳循環調節に及ぼす役割

脳循環は脳機能活動と連動して増減する[37]が，この脳血流と代謝のカップリング（flow-metabolism coupling）現象は，1890年にRoyとSherrington[38]によって初めて報告されて100年以上経った今でも，その機序は未だ十分に解明されていない．前述のようにシナプスと微小血管（この場合には細動脈）を橋渡しする形で存在するアストロサイトの解剖学的特長はニューロンで起こる機能活動亢進をアストロサイトがなんらかの形で伝達する可能性を示唆し，アストロサイト機能異常が微小循環障害を基盤とする神経疾患の病因にも関与する可能性がある．近年，この点に関するいくつかの研究報告が注目を集めた．

既に述べてきたように，脳全体のグルコース代謝はほぼ完全な酸化的リン酸化であり，その結果産生されるCO_2は脳血管拡張物質として作動する．したがってCO_2はflow-metabolism couplingの古典的なメディエーター候補である．機能活動亢進時にニューロンにおいてCO_2産生が増加することにほぼ疑いはないが，アストロサイトのグルコース代謝には検討の余地があることは既に述べた．機能活動亢進に際してアストロサイトの酸化的グルコース代謝が亢進する部位においては，CO_2が近接す

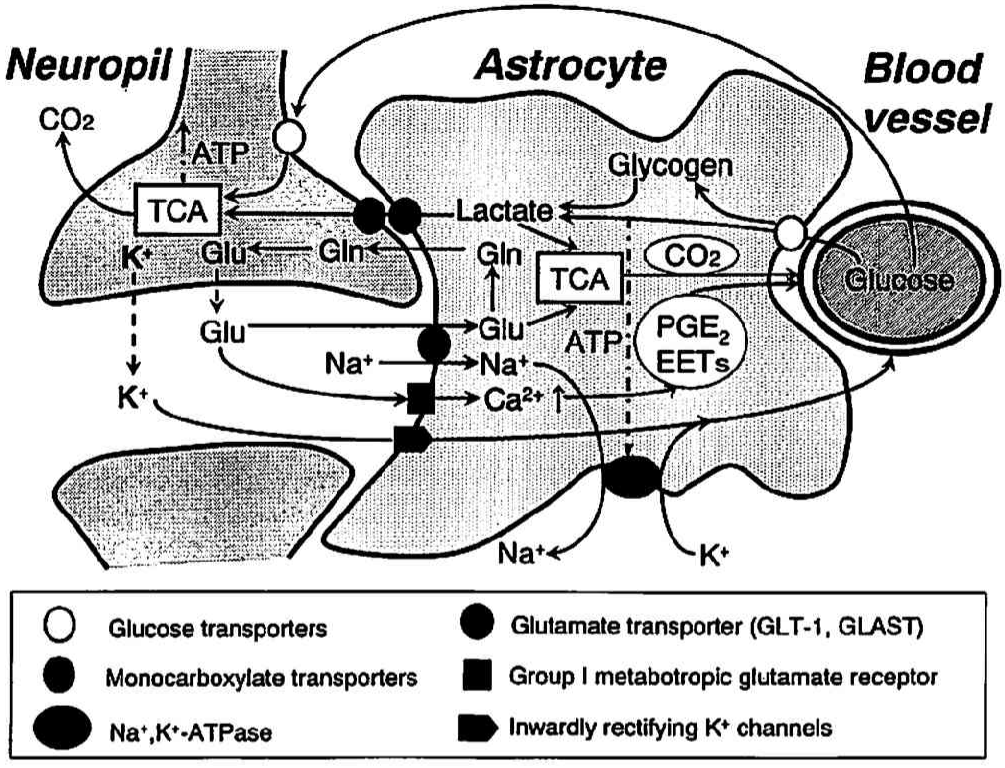
る細動脈拡張に作用する可能性があるだろう．

また，脳の機能活動亢進が脳細胞外液中の K^+ 濃度の上昇を来たすことも良く知られている．安静時の脳細胞外液 K^+ 濃度はおよそ3 mM，神経活動時には10～20 mM，てんかん発作，虚血時には50～80 mMに達するとされている．アクション・ポテンシャルは必然的に脳細胞外液 K^+ 濃度の軽度上昇を来たすが，ニューロン活動維持の為には直ちに正常脳細胞外液 K^+ 濃度が復帰される必要がある．この細胞外液からの K^+ のクリアランスに，アストロサイトが大きく関わっていることが古くから知られている．特に，神経活動の亢進した高い脳細胞外液 K^+ 濃度の部位において K^+ が流入し，遠隔部位（脳血管近傍）で K^+ が流出するとするモデル（K^+ siphoning）は，K^+ が血管拡張物質であるという点から，アストロサイトを介した脳血流の調節機序の可能性を示すものとして注目されたが，実証はされていない[39]．脳細胞外液 K^+ 濃度増加時のアストロサイトのエネルギー需要の変化，特にグルコース利用についても検討されているが，～10 mM程度の上昇はウアバイン感受性のある [^{14}C]deoxyglucose リン酸化反応の増加をきたし Na^+, K^+-ATPase の関与した能動的輸送を示唆する．しかし，これ以上の病的な K^+ 濃度増加は逆に [^{14}C]deoxyglucose リン酸化率を抑制する[14]．筆者らによる同じ実験系では，軽度の脳細胞外液 K^+ 濃度上昇に際して [^{14}C]deoxyglucose リン酸化反応の増加に反映されるグルコース利用率は増加するものの，[^{14}C]lactate, [^{14}C]glucose の酸化率に増加が観察されず，グルコースの oxidative metabolism への影響が観察されなかった点は興味深い．グルタミン酸刺激と異なり，K^+ 濃度上昇はエネルギー産生効率の低い glycolysis のみの亢進であったことは，K^+ の取り込みにはエネルギー消費を伴う能動輸送以外に，内向き整流 K^+ チャネル等を介した受動的取り込みが関与していることを示唆するものと解釈される．つまり，アストロサイトの K^+ siphoning がニューロンの機能活動亢進を血管拡張に伝達する目的を持つならば，それ自身に要するエネルギーが少なくて済むことは合目的的であると思われる．

さて，神経活動亢進時に興奮性シナプス間隙で増加したグルタミン酸は，アストロサイトに発現する代謝型グルタミン酸受容体（mGluR）にも作用する．特に PLCβ と共役する group I mGluR（1 & 5）は IP_3 を介して細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させる．近年2つのグループが mGluR 刺激によるアストロサイト細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇と近傍の細動脈血管拡張を結び付けるメディエーターとして各々，①cytochrome P450 epoxygenase による epoxyeicosatrienoic acid（EETs）[40]，②COX による prostaglandin（特に PGE_2）[41] である可能性を示した．さらにカナダのグループ[42]が，同様にアストロサイトの mGluR を介した脳血管調節の可能性を示したが，彼らはむしろ mGluR 刺激と細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇がアストロサイトの PLA_2 を活性化し，ここで産生放出されたアラキドン酸は，続いて細動脈平滑筋内で 20-HETE に変換されて血管収縮を起こす可能性を重視している．シナプスに放出され，アストロサイトに取り込まれるグルタミン酸が mGluR を介してアストロサイト自体の代謝に与える影響も検討すべきであるが，我々のアッセイ系では，mGluR アゴニストである t-ACPD（50 μM）はアストログリアの [^{14}C]deoxyglucose リン酸化率，[^{14}C]lactate 酸化率とも有意な変化を来たさなかった．アストロサイトの mGluR を解したエネルギー代謝への直接の影響はないようである．アストロサイトの mGluR 刺激が血管拡張に作動するのか，血管収縮に作動するのかは，さらに詳細な検討が必要であろう．

ま と め

アストロサイトが脳循環代謝調節において種々の役割を果たしている可能性を述べた．グルコース代謝に関わる仮説（ANLSH）を支持するデータは断片的であり，総体としてこれをサポートするデータに乏しい．しかし，またこれを否定する証左が十分揃っている訳でもない．両者ともに脳機能の活性化のモダリティーや強度によって刻々変化する現象の一断面を見ているだけなのかもしれない．いずれにしても，ニューロン－アストロサイト－微小循環の3者間のネットワークの解明と脳機能再生におけるネットワーク再構築が21世紀の脳疾患治療のキーとなることは間違いないだろう．最後に現時点における3者間のネットワークのモデル（仮説を含む）を図に示す．



図：ニューロン－アストロサイト－微小循環のネットワークのモデル

シナプスと微小血管（毛細血管もしくは細動脈），これらを橋渡しするアストロサイトによる3者間ネットワークのモデルを示す．血管内から供給されるグルコースは，毛細血管に近接するアストロサイトと近傍のニューロン（前と後シナプスの双方）に取り込まれていると考えられる．興奮性ニューロトランスミッターであるグルタミン酸（Glu）はシナプス間隙に放出後，Na^+ とともにトランスポーター（GLT-1，GLAST）によってアストロサイトに取り込まれ，ATPの消費によってグルタミン（Gln）に変換される．このプロセスに必要な Na^+ イオン濃度勾配の維持のため，Na^+，K^+-ATPase が作動し ATP 消費の場となる．現時点では Glu の取り込みにかかわる ATP を産生する場が，アストロサイトの解糖系のみか，TCA サイクルも関与するのかは不明である．神経興奮の強度と持続時間によって様々に規定されているのであろう．また Glu 自体も一部 TCA サイクル内でエネルギー産生基質となっている可能性がある．アストロサイトに取り込まれたグルコースは一部グリコーゲンとしてターン・オーバーしつつ乳酸産生が起こるが，その一部はモノカルボン酸トランスポーター（MCT）によってニューロンに移送され，ニューロンのエネルギー基質となっている可能性がある（ANLSH：astrocyte-neuron lactate shuttle hypothesis）．しかし乳酸の一部は，ギャップ・ジャンクションによって連結したアストロサイト・シンシチウムを拡散し脳内の他の部位（局在は不明）に運び出されている可能性も指摘されている．近年シナプスへの Glu 放出は，アストロサイトの代謝型グルタミン酸受容体にも作用し，プロスタグランジン，エイコサノイドの産生を介してアストロサイトから細動脈への血管拡張シグナルになっている可能性が報告された．古典的には神経活動に伴って放出される K^+ や CO_2 もまた血管拡張物質である．神経機能活動亢進時に，K^+ はアストロサイト・シンシチウムのサイフォン効果を介して細動脈を拡張させ，また Glu トランスポーターによって起こるアストロサイト自身の oxidative metabolism 亢進によって産生された CO_2 は直接細動脈に作用し，これらがアストロサイトを介在した flow-metabolism coupling のメカニズムの一部を担っている可能性がある．

文　献

1) Clarke DD, Sokoloff L : Circulation and energy metabolism of the brain. In : Basic neurochemistry : molecular, cellular, and medical aspects, 6th edition. (Ed) Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD, Lippincott-Raven, Philadelphia, p. 637-669, 1999
2) de la Torre JC : Alzheimer disease as a vascular dosprder. Nosological evidence. Stroke 33 : 1152-1162, 2002
3) Araque A, Parpura V, Sanzgiri R, Haydon PG : Tripartite synapses : glia the unacknowledged partner. Trends Neirosci 22 : 208-215, 1999
4) Haydon PG : Glia : listening and talking to the synapse. Nat Rev Neurosci 2 : 185-193, 2001
5) Fields RG, Stevens-Graham B : New insight into neuron-glia communication. Science 298 : 556-561, 2002
6) Norenberg MD : Astrocyte responses to CNS injury. J Neuropathol Exp Neurol 53 : 213-220, 1994
7) Attwell D, Laughlin SB : An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. J Bereb Blood Flow Metab 21 : 1133-1145, 2001
8) Virgintino D, Monaghan P, Robertson D, Errede M, Bertossi M, Ambrosi G, Roncali L : An immunohistochemical and morphometric study on astrocytes and microvasculature in the human cerebral cortex. Histochem J 29 : 655-660, 1997
9) 高橋慎一：脳の機能活動とエネルギー産生の時間的，空間的プロファイル，－ニューロン－アストロサイト連関から見たグルコース代謝－．脳循環代謝 9：1-17，1997
10) Fox PT, Raichle ME : Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. Proc Natl Acad Sci USA 83 : 1140-1144, 1986
11) Fox PT, Raichle ME, Mintun MA, Dence C : Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. Science 241 : 462-464, 1988
12) Prichard J, Rothman D, Novotny E, Petroff O, Kuwabara T, Avison M, Howseman A, Hanstock C, Shulman RG : Lactate rise detected by ^{1}H NMR in human visual cortex during physiologic stimulation. Proc Natl Acad Sci USA 88 : 5829-5831, 1991
13) Pellerin L, Magistretti PJ : Glutamate uptake into astroglia stimulates aerobic glycolysis : a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. Proc Natl Acad Sci USA 91 : 10625-10629, 1994
14) Takahashi S, Driscoll BF, Law MJ, Sokoloff L : Role of sodium and potassium ions in regulation of glucose metabolism in cultured astroglia. Proc Natl Acad Sci USA 92 : 4616-4620, 1995
15) Pellerin L, Pellegri G, Bittar PG, Charnay Y, Bouras C, Martin JL, Stella N, Magistretti PJ : Evidence supporting the existence of an activity-dependent astrocyte-neuron lactate shuttle. Dev Neurosci 20 : 291-299, 1998
16) Magistretti PJ, Pellerin L, Rothman DL, Shulman RG : Energy on demand. Science 283 : 496-497, 1999
17) Bouzier-Sore AK, Merle M, Magistretti PJ, Pellerin L : Feeding active neurons : (re)emergence of a nursing role for astrocytes. J Physiol (Paris) 96 : 273-282, 2002
18) Pellerin L, Magistretti PJ : Food for thought : challenging the dogmas. J Cereb Blood Flow Metab 23 : 1282-1286, 2003
19) Pellerin L, Magistretti PJ : The central role of astrocytes in neuroenergetics. In : Neuroglia, 2 nd edition. (Ed) Kettenman H, Ransom BR, Oxford University Press, New York, p. 367-376, 2005
20) Sibson NR, Dhankhar A, Mason GF, Rothman DL, Behar KL, Shulman RG : Stoichiometric coupling of brain glucose metabolism and glutamatergic neuronal activity. Proc Natl Acad Sci USA 95 : 316-321, 1998
21) Cholet N, Pellerin L, Welker E, Lacombe P, Seylaz J, Magistretti P, Bonvento G : Local injection of antisense oligonucleotides targeted to the glial glutamate transporter GLAST decreases the metabolic response to somatosensory activation. J Cereb Blood Flow Metab 21 : 404-412, 2001
22) Voutsinos-Porche B, Bonvento G, Tanaka K, Steiner P, Welker E, Chatton JY, Magistretti PJ, Pellerin L : Glial glutamate transporters mediate a functional metabolic crosstalk between neurons and astrocytes in the mouse developing cortex. Neuron 37 : 275-286, 2003
23) Chih CP, Lipton P, Roberts EL Jr : Do active cerebral neurons really use lactate rather than glucose? Trends Neurosci 24 : 573-578, 2001
24) Chih CP, Roberts EL Jr : Energy substrates for neurons and during neural activity : a critical review of the astrocyte-neuron lactate shuttle hypothesis. J Cereb Blood Flow Metab 23 : 1263-1281, 2003
25) Mangia S, Garreffa G, Bianciardi M, Giove F, Di Salle F, Maraviglia B : The aerobic brain : lactate decrease at the onset of neural activity. Neuroscience 118 : 7-10, 2003
26) Dienel GA, Cruz NF : Nutrition during brain activation : does cell-to-cell lactate shuttling contribute significantly to sweet and sour food for thought? Neurochem Int 45 : 321-351, 2004
27) Hertz L : The astrocyte-neuron lactate shuttle : a challenge of a challenge. J Cereb blood Flow Metab 24 : 1241-1248, 2004
28) Itoh Y, Abe T, Takaoka R, Tanahashi N : Fluoro-

metric Determination of glucose utilization in neurons in vivo and in vitro. J Cereb Blood Flow Metab 24 : 993-1003, 2004

29) Nehlig A, Wittendorp-Rechenmann E, Lam CD : Selective uptake of [^{14}C]2-deoxyglucose by neurons and astrocytes : high-resolution microautoradiographic imaging by cellular ^{14}C-trajectography combined with immunohistochemistry. J Cereb Blood Flow Metab 24 : 1004-1014, 2004

30) Silver IA, Erecińska M : Energetic demands of the Na^+/K^+ATPase in mammalian astrocytes. Glia 21 : 35-45, 1997

31) Abe T, Takahashi S, Fukuuchi Y : Limited glucose availability enhances oxidative metabolism of glucose in cultured rat astroglia. Abstract Soc Neurosci Program number 765.4, 2003

32) Madsen PL, Cruz NF, Sokoloff L, Dienel GA : Cerebral oxygen/glucose ration is low during sensory stimulation and rises above normal during recovery : excess glucose consumption during stimulation is not accounted for by lactate efflux from or accumulation in brain tissue. J Cereb Blood Flow Metab 19 : 393-400, 1999

33) Newman EA : Glia and synaptic transmission. In : Neuroglia, 2nd edition. (Ed) Kettenman H, Ransom BR, Oxford University Press, New York, p. 355-366, 2005

34) Chatton JY, Pellerin L, Magistretti PJ : GABA uptake into astrocytes is not associated with significant metabolic cost : implications for brain imaging of inhibitory transmission. Proc Natl Acad Sci USA 100 : 12456-12461, 2003

35) Cornell-Bell AH, Finkbeiner SM, Cooper MS, Smith SJ : Glutamate induces calcium waves in cultured a strocytes : long-range glial signaling. Science 247 : 470-473, 1990

36) Bernardinelli Y, Magistretti PJ, Chatton JY : Astrocytes generates Na^+-mediated metabolic waves. Proc Natl Acad Sci USA 101 : 14937-14942, 2004

37) Sokoloff L : Relationships among local functional activity, energy metabolism, and blood flow in the central nervous system. Fed Proc 40 : 2311-2316, 1981

38) Roy CW, Sherrington CS : On the regulation of the blood-supply of the brain. J Physiol (London) 11 : 85-108, 1890

39) Paulson OB, Newman EA : Does the release of potassium from astrocyte endfeet regulate cerebral blood flow? Science 237 : 86-898, 1987

40) Harder DR, Alkayed NJ, Lange AR, Gebremedhin D, Roman RJ : Functional hyperemia in the brain. Hypothesis for astrocyte-derived vasodilator metabolites. Stroke 28 : 229-234, 1998

41) Zonta M, Angulo MC, Gobbo S, Rosengarten B, Hossmann KA, Pozzan T, Carmignoto G : Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. Nat Neurosci 6 : 43-50, 2003

42) Mulligan SJ, MacVicar BA : Calcium transients in astrocyte endfeet cause cerebrovascular constrictions. Nature 431 : 195-199, 2004