

Title	Oxidative metabolism in cultured rat astroglia : effects of reducing the glucose concentration in the culture medium and of D-aspartate or potassium stimulation
Sub Title	ラット培養アストロサイトの酸化的代謝に対する低グルコース培養とD-アスパラギン酸ないしカリウム刺激の影響
Author	安部, 貴人(Abe, Takato)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.1 (2006. 3) ,p.5-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060302-0005

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.

Oxidative metabolism in cultured rat astroglia : effects of reducing the glucose concentration in the culture medium and of D-aspartate or potassium stimulation

(ラット培養アストロサイトの酸化代謝に対する低グルコース培養と

D-アスパラギン酸ないしカリウム刺激の影響)

安部 貴人

内容の要旨

基礎活動時および神経活動亢進時に、アストロサイトが主に何をエネルギー基質にしているのかは明らかになっていない。細胞外乳酸の酸化率は酸化代謝すなわちTCAサイクルの活動度の指標となるが、培養細胞を用いた実験結果では、 $[^{14}\text{C}]$ lactateを基質とした際の $^{14}\text{CO}_2$ への酸化率はニューロンの方が高いとする報告と、ニューロンとアストロサイトで同程度とする報告があり一定していない。

ラットの脳の細胞外液中のグルコース濃度は0.5~3.3mMと報告されているが、通常の細胞培養に使用される培地中のグルコース濃度はこれに比べ非常に高い。しかし、生理的範囲内のグルコース濃度で培養されたアストログリアのエネルギー代謝についてはほとんど検討されていない。今回我々は、ラット大脳皮質由来のアストログリアを用い、低グルコース濃度下での培養がアストログリアのエネルギー代謝にどのような影響を与えるかを検討した。グルコース利用率評価のため、 $[^{14}\text{C}]$ deoxyglucoseリン酸化率を測定した。TCAサイクルの活動度の指標として、 $[^{14}\text{C}]$ lactateおよび $[^{14}\text{C}]$ glucoseの、 $^{14}\text{CO}_2$ への酸化率を測定した。

また、細胞内 Na^+ 濃度ないし細胞外 K^+ 濃度の上昇は Na^+ 、 K^+ -ATPase活性を上昇させエネルギー需要を増やすことが知られており、定常状態でのエネルギー基質利用率に加えこれらの状態下でのエネルギー基質利用率の変化を検討した。

ニューロン、低グルコース下 (2mM) で培養したアストログリア (アストログリア₁)、高グルコース下 (22mM) で培養したアストログリア (アストログリア₂) の $[^{14}\text{C}]$ deoxyglucoseリン酸化率は同程度であったが、アストログリア₂のグルコース酸化率、乳酸酸化率はアストログリア₁の各々2倍程度であった。D-アスパラギン酸による細胞内 Na^+ 濃度上昇は、アストログリア₂およびアストログリア₂₂の $[^{14}\text{C}]$ deoxyglucoseリン酸化率、グルコースおよび乳酸酸化率を上昇させた。しかし細胞外 K^+ 濃度の上昇はアストログリア₂およびアストログリア₂₂の $[^{14}\text{C}]$ deoxyglucoseリン酸化率を増加させたものの、酸化代謝には影響を与えなかった。このように、両アストログリアとも活性化された際には高いグルコースおよび乳酸酸化能を示すが、高グルコース濃度下での培養は、定常時のアストログリアの酸化代謝活性を著明に抑制することが明らかとなった。

神経興奮時に局所に増加する乳酸がどのような運命をたどるのかという事については、はっきりとした結論が出ていない。これまでニューロンがエネルギー基質として取り込む可能性が考えられてきたが、本研究の結果からはアストロサイトもまた乳酸を取り込みエネルギー基質とする能力を有していると考えられた。

論文審査の要旨

基礎活動時および神経活動亢進時に、アストログリアが主に何をエネルギー基質にしているのかは明らかになっていない。本研究では、ラット大脳皮質由来のアストログリアを用い、低グルコース濃度下での培養がアストログリアのエネルギー代謝にどのような影響を与えるかを検討した。グルコース利用率評価のため、 $[^{14}\text{C}]$ deoxyglucoseリン酸化率を、またTCAサイクルの活動度の指標として、 $[^{14}\text{C}]$ lactateおよび $[^{14}\text{C}]$ glucoseの、 $^{14}\text{CO}_2$ への酸化率を測定した。ニューロン、低グルコース下 (2mM) で培養したアストログリア (アストログリア₁)、高グルコース下 (22mM) で培養したアストログリア (アストログリア₂) の $[^{14}\text{C}]$ deoxyglucoseリン酸化率は同程度であったが、アストログリア₂のグルコース酸化率、乳酸酸化率はアストログリア₁の各々2倍程度であった。D-アスパラギン酸による細胞内 Na^+ 濃度上昇は、アストログリア₂およびアストログリア₂₂の $[^{14}\text{C}]$ deoxyglucoseリン酸化率、グルコースおよび乳酸酸化率を上昇させた。しかし細胞外 K^+ 濃度の上昇はアストログリア₂およびアストログリア₂₂の $[^{14}\text{C}]$ deoxyglucoseリン酸化率を増加させたものの、酸化代謝には影響を与えなかった。このように、両アストログリアとも活性化された際には高いグルコースおよび乳酸酸化能を示すが、高グルコース濃度下での培養は、定常時のアストログリアの酸化代謝活性を著明に抑制することが明らかとなった。

審査ではまず、本来のニューロン・アストログリア相互作用を考えると、両者の混合培養系での代謝の変化を解析する必要があるのではないかとこの質問があり、両者の混合培養は现阶段では技術的に困難であるが、今後培養系の調整により克服していく予定であると回答された。さらに、今回の解析に用いられた培養ニューロンの成熟度やviabilityは検討されているか、との質問には今後電気生理学的特性などを含め検討していく予定であると回答された。次に、これまでのアストログリアの培養に一般に高濃度グルコース培地が用いられてきた理由についての質問には、かつてはニューロンの培養が主眼であったため培地交換の必要性の低い高濃度培地が用いられていた可能性が高いと回答された。さらに、培地に fetal bovine serum (FBS) が加えられているがグルコース濃度を変化させてしまうので必要ないのではないかとこの質問に対して、従来の慣習にしたがってFBSを加えたが、非添加状態では検討していないと回答された。培養された細胞の評価については、免疫染色によりアストログリアとニューロンを同定して純粋性を評価した上で実験が進められたと回答された。さらに、大脳皮質から採取したアストログリアと基底核から採取したニューロンの機能の比較は妥当であるかとの質問には、すでにアストログリアの部位別の機能について差がほとんど見られないことを確認しているとの回答があった。さらに、アストログリアに比べニューロンの方が酸化代謝に依存しているという結論に対しては、両者でLDH isozymeが異なる可能性、乳酸の細胞内トランスポーターが異なる可能性、およびビルビン酸をTCAサイクルに取り込むpyruvate dehydrogenaseが異なる可能性などが考えられるが、本研究からは結論はできないとの回答がなされた。

以上、本研究は今後さらに検討すべき課題を残してはいるが、アストログリアもまた乳酸を取り込みエネルギー基質とすることを明らかにした点で有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 鈴木 則宏
解剖学 仲嶋 一範 外科学 河瀬 斌
生理学 岡野 栄之
学力確認担当者 :
審査委員長 : 仲嶋 一範

試問日 : 平成17年10月26日