

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	滝 沢 翼
主 論 文 題 名 Temporal profiles of high-mobility group box 1 expression levels after cortical spreading depression in mice (マウスにおける皮質拡延性抑制後のhigh-mobility group box 1の経時的変化)				
(内容の要旨) 片頭痛患者の25%では閃輝暗点に代表される前兆が頭痛に先行する。前兆の病態機序はニューロンやグリア細胞の細胞膜におこる脱分極が同心円状に伝播していく皮質拡延性抑制 (cortical spreading depression; CSD) と考えられている。近年CSDは片頭痛の前兆のみでなく、脳血管障害での関与も示唆されている。前兆のある片頭痛ではCSDが単発であるのに対し、脳血管障害および家族性片麻痺性片頭痛ではCSDが複数回おきると考えられている。 High-mobility group box 1 (HMGB1) はAlarminファミリーに属するタンパク質で、通常は核内に存在しているが、傷害をうけた細胞では細胞質、細胞外へ放出される。2013年にCSDと片頭痛の疼痛を結びつける現象として、CSD直後の大脳皮質のニューロンからHMGB1の放出が報告された (Karatas et al. Science, 2013)。 今回、マウスのCSD後の大脳皮質のニューロンとアストロサイトにおけるHMGB1のmRNAおよびタンパク質発現の経時的変化に、CSDの誘発回数が及ぼす影響を検討した。左頭頂葉に1M KClを滴下することで、CSDを1回あるいは5回誘発し、CSD誘導側の頭頂葉皮質を観察部位に設定した。CSDを1回誘発したマウスに関してはCSDから3時間後、5回誘発したマウスに関しては30分後、3時間後あるいは24時間後について検討した。 まずHMGB1 mRNAの <i>in situ</i> hybridizationを施行したところ、CSDから3時間後の転写については1回では有意な変化はみられなかったが、5回では有意な亢進がみられた。CSD5回誘発後のHMGB1 mRNA の転写は30分で上昇はじめており、24時間後にはベースラインに戻っていた。ニューロンのHMGB1 mRNA陽性細胞のシグナル強度の上昇が観察されたが、グリアでは変化は乏しかった。 次にHMGB1タンパク質発現量をWestern blot法で定量したところ、CSDから3時間後では1回では有意な変化はみられなかったが、5回では有意な低下がみられた。CSD5回誘発後では30分後から低下がみられ、24時間後にはベースラインに戻っていた。 最後にHMGB1とニューロンのマーカーであるNeuN、アストロサイトのマーカーであるGS6の免疫組織化学染色 (二重染色) を施行した。HMGB1は対照群ではニューロンとアストロサイトそれぞれの核内に存在していたが、CSD5回誘発後では少数のニューロンの核からの放出像が観察された。アストロサイトにおいて放出像は確認されなかった。CSD1回誘発後では明らかな変化はみられなかった。 以上の結果より、CSD後に回数依存的に大脳皮質のニューロンからHMGB1タンパク質の放出がおこり、その代償作用としてHMGB1の転写活性が亢進している可能性が示唆された。臨床的には、HMGB1のニューロンからの放出や転写・翻訳活性の変化はCSDが単発と考えられている前兆のある片頭痛よりもCSDが複数回と考えられている脳血管障害および家族性片麻痺性片頭痛でより顕著に認められることが示唆された。				