

脳卒中ラット (SHRSP/lzm) を用いた神経細胞障害の予防に関する研究

日本大学生物資源科学部食品衛生化学研究室 山形一雄
就実大学薬学部健康解析学教室 奈良安雄
三楽病院循環器内科 田上幹樹

我々は 脳虚血再還流時に脳卒中易発症高血圧ラット (SHRSP/lzm) と正常対照ラット (WKY/lzm) の神経細胞に起こる神経細胞死がビタミンEや降圧剤により抑制されるかどうか検討した。その結果、低酸素、酸素再灌流時に起こる神経細胞のアポトーシスの割合は、SHRSP神経細胞の方がWKY神経細胞よりも顕著に多く、ビタミンEの添加で、このアポトーシスをほぼ完全に抑制できることを示した^{1, 2)}。

さらに、アムロジピン、カルベジロール等の抗酸化能を有する降圧剤が降圧効果とともに神経細胞障害においても抑制効果を合わせもつことを解明した³⁾。

本稿では我々の検討した低酸素/再灌流条件で誘発されるSHRSP/lzmの神経細胞におけるアポトーシス誘発とビタミンEの神経細胞死の抑制作用を主に示し、紙面の都合上、抗酸化作用をもつ降圧剤の効果については、その一部を紹介するにとどめる。

1. 低酸素刺激で誘発されるSHRSP/lzm神経細胞のアポトーシスとビタミンEによる予防

神経細胞は低酸素/再酸素条件で傷害を受けやすい。我々は、SHRSP/lzmおよびWKY/lzmの胎児脳から分離した神経細胞を低酸素で6~36時間培養し、さらに再酸素状態で1.5~5時間培養し細胞の状態を検討した。

両系統の神経細胞とも24時間の低酸素では細胞死の誘導は見られなかった。36時間の低酸素状態でもWKY/lzmの神経細胞の大部分は生存しているが、SHRSP/lzmでは細胞死は顕著に増加し、そのほとんどがアポトーシスに陥った(図1)¹⁾。

低酸素化に3時間の再酸素刺激を加えるとWKY/lzmの細胞死は68%、SHRSP/lzmに至ってはほとんどすべての細胞が死滅した。再酸素時間を5時間まで延ばすと、WKY/lzmの神経細胞もほぼ完全に死に至った。

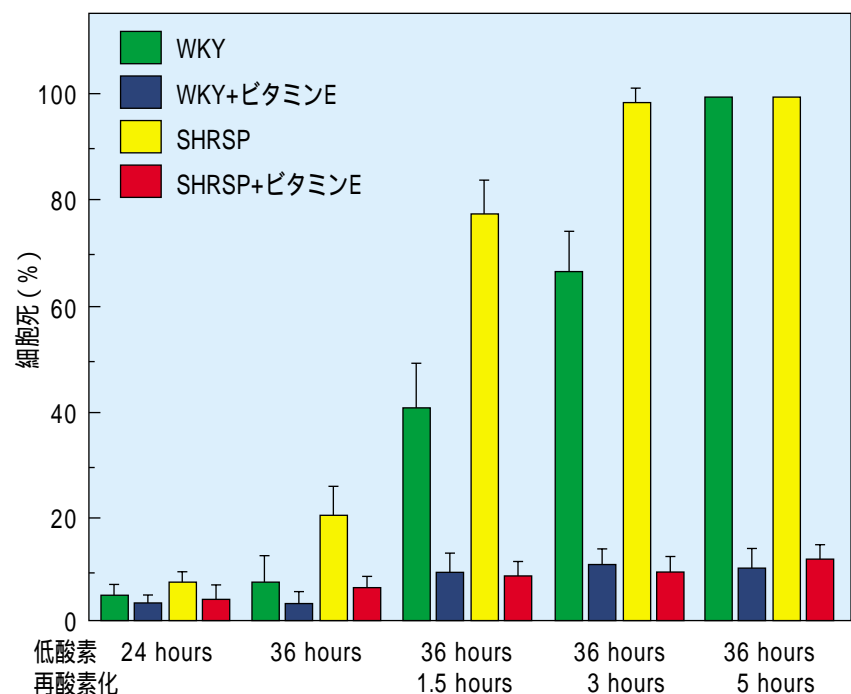


図1. 培養神経細胞の細胞死とビタミンEの効果

2. ビタミンEおよびアムロジピン、カルベジロールのSHRSPの神経細胞死に対する抑制効果

我々は低酸素状態に続く再酸素化状態で誘発される酸化ストレス傷害に対し、ビタミンEおよびアムロジピン、カルベジロールの保護効果を比較検討した。

初代培養神経細胞を用い、低酸素および再酸素化の条件でそれぞれビタミンEおよび、いくつかの降圧剤を加えた。低酸素と再酸素刺激によるWKY/lzmとSHRSP/lzmの細胞死は100 μg/mlのビタミンEの添加により、それぞれ細胞死を減少させた(図1)。

さらに、同条件でビタミンEは濃度依存的に細胞死を抑制し、高濃度の添加において細胞死をほぼ完全に阻止した¹⁾。我々はビタミンE添加後の神経細胞のミトコンドリアにおけるビタミンE濃度をHPLCにて定量し、ビタミンE50 $\mu\text{g/ml}$ の添加濃度が最も効果的に神経細胞のミトコンドリアに取り込まれ、神経細胞100万あたり0.24 μg のビタミンEの量で十分SHRSPのアポトーシスを阻止できることを算出して突き止めた¹⁾。

我々はさらに、SHRSPの両側頸動脈を30分間クリップでくくり、その後6日間の再灌流を行い、ビタミンEの脳神経細胞のアポトーシスに対する効果を検討し、高濃度ビタミンE食で飼育したSHRSPの脳の神経細胞死を1000細胞あたり41個と激減させることも証明した（無添加は542個の神経細胞がアポトーシス）²⁾。

さらに、抗酸化作用を有する降圧剤数種をえらび、ビタミンEと比較検討した。そして、詳細は割愛するが、ビタミンE、ジビリダモール、カルベジロール、アムロジピンの順で強くSHRSPの神経細胞死を抑制することを明らかにした（図2）³⁾。

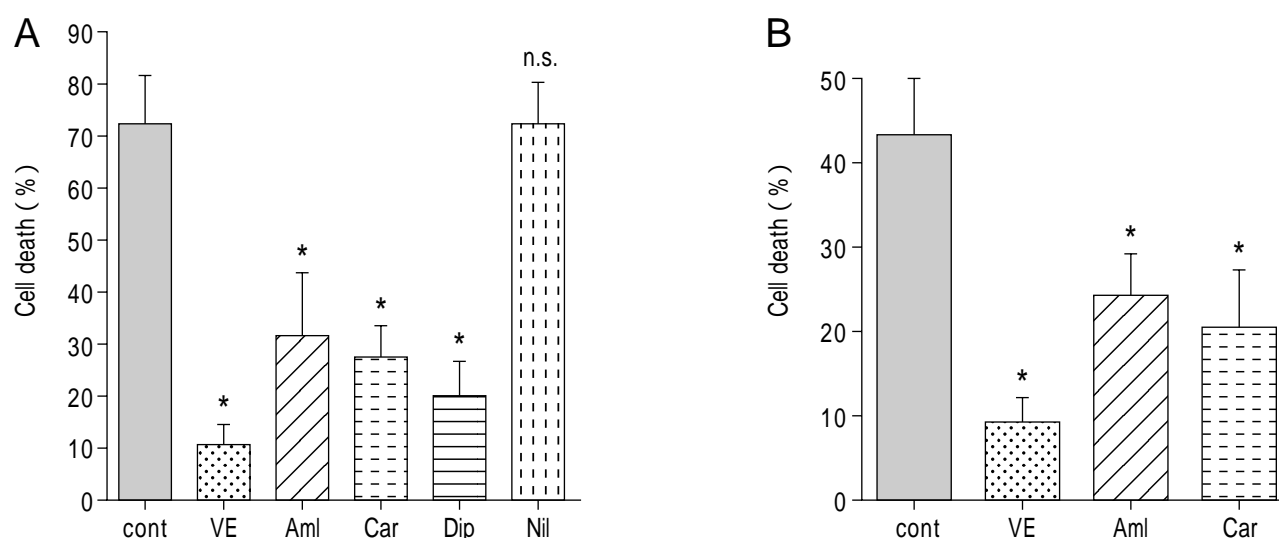


図2. 低酸素/再酸素化によるSHRSP/Izm神経細胞死に対するビタミンEおよび各種降圧剤の効果

A ; SHRSP/Izm, B ; WKY/Izm. VE ; ビタミンE (100 μM), Aml ; アムロジピン (5 μM), Car ; カルベジロール (10 μM), Dip ; ジビリダモール (10 μM), Nil ; ニルバジピン (1 μM). 低酸素24時間後再酸素化3時間の処理。

おわりに

SHRSP/Izmの神経細胞障害に対するビタミンEの効果とともに降圧剤の効果を示した。降圧作用とともに、神経細胞障害に対する抑制作用を同時に併せ持つ降圧剤の利用は、血圧制御に加えて、神経保護が同時に達成されることが予想される。

この結果、脳血管障害を発症しても、例えば認知機能等の神経障害の程度が軽度ですむ可能性が期待される。SHRSP/Izmを使用した脳細胞に関する予防的研究は今後ますます重要性を増すと思われる。

参考文献

- 1) Tagami, M. *et al.* (1998) Lab Invest, 78: 1415-1429.
- 2) Tagami, M. *et al.* (1999) Lab Invest, 79: 609-615.
- 3) Yamagata K. *et al.* (2004) Hyper Res, 27: 271-282.



SHR等疾患モデル共同研究会

事務局

〒606-8413 京都市左京区浄土寺下馬場町86番地
国際健寿ビル1F TEL & FAX : 075-761-2371
E-mail: dmcra@j.email.ne.jp

生産管理部

責任者 土倉 覚
〒433-8114 浜松市葵東3丁目5番1号
TEL & FAX : 053-414-0626
E-mail: shrtsuchikura@h5.dion.ne.jp