

## 審査論文要旨 (日本文)

論文提出者氏名： 高橋 奈々恵

審査論文

題名： Different characteristics of cell volume and intracellular calcium ion concentration dynamics between the hippocampal CA1 and lateral cerebral cortex of male mouse brain slices during exposure to hypotonic stress

(低張ストレスに暴露されたマウス脳スライスにおける海馬 CA1 と大脳皮質側頭部の細胞容積および細胞内カルシウムイオン濃度動態の性質の差異)

著者： Nanae Takahashi, Akibumi Omi, Hiroyuki Uchino, Yoshihisa Kudo

掲載誌： Journal Neuroscience Research 2017;1-11 DOI:10.1002/jnr.24086

(審査論文要旨：日本語論文の場合 1,000 字以内・英語論文の場合 500 words)

【背景と目的】脳浮腫は多様な脳障害に伴って生ずるが、その機序は未だ十分には解明されていない。本研究では脳細胞を低張液に暴露したときに生ずる細胞容積変化と細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度変化を計測し、多様な機械的刺激感受性機構に特異的に作用する薬物を用いて脳浮腫の発現機構の解明のための手がかりを得ることを目的とした。

【方法】マウス脳スライス標本に蛍光指示薬 Fura2-AM を負荷し、 $\text{Ca}^{2+}$ 非感受性波長、360nm 励起による蛍光画像 (F360) と  $\text{Ca}^{2+}$ 感受性波長、380nm による蛍光画像 (F380)、を交互に得ることによって、脳細胞容積変化と細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度を同時に計測する方法を確立した。この方法を用いて、人工脳脊髄液 (ACSF) を通常の 3/4 の濃度に希釈した低張 ACSF に暴露した時に大脳皮質側頭部 (LCC) と海馬 CA1 領域 (CA1) に生ずる細胞浮腫、調節性容量変化 (regulatory volume change: RVC) および  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度変化を計測し、脳細胞膜上に分布する多様な機械的刺激感受性チャネルおよび受容体に影響を与える薬物作用を検討した。

【結果】低張液暴露時の脳細胞浮腫は、LCC の方が CA1 より有意に大きく、 $\text{Ca}^{2+}$ 上昇も RVC も有意に大きいことが認められた。機械的刺激感受性チャネルの阻害薬、 $\text{LaCl}_3$  は LCC の浮腫および細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 上昇を抑制したが、CA1 の浮腫および  $\text{Ca}^{2+}$ 上昇は抑制しなかった。Thapsigargin (細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 貯蔵阻害薬) および Xestospongin C ( $\text{IP}_3$  受容体阻害薬) は LCC と CA1 両部位の  $\text{Ca}^{2+}$ 上昇を有意に抑制した。塩素イオンチャネル阻害薬 NPPB は LCC と CA1 の浮腫を促進し、 $\text{Ca}^{2+}$ 上昇を抑制した。揮発性麻酔薬イソフルランは LCC の細胞浮腫を増大させ、RVC を強く抑制した。

【結論・考察】本研究は、低張液に暴露された LCC の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 上昇は容量依存性 G タンパク共役型受容体を介した細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ の上昇と、機械的刺激感受性  $\text{Ca}^{2+}$ チャネルを介して細胞外から流入した  $\text{Ca}^{2+}$ によるのに対して、CA1 領域での  $\text{Ca}^{2+}$ 上昇は容量依存性 G タンパク共役型受容体のみに依存していることを明らかにした。イソフルランは浮腫を促進し、容量依存性 G タンパク共役型受容体の活性を抑制し、RVC も抑制した。塩素イオンチャネル阻害薬 NPPB は浮腫を促進し、 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度上昇を抑制しながら、RVC には作用しなかった。これらの結果は RVC の発現には細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 依存性のメカニズムに加えて、陰イオン依存性因子も関与していることを示唆している。本研究は、脳細胞浮腫における各種機械的刺激感受性機構の関与の理解を深めるのみではなく、揮発性麻酔薬の作用メカニズムの解明にも手がかりを与える可能性を示唆している。