

II-C-05

ラット脳におけるグルココルチコイド受容体と共役因子 SRC-1 および p300 の生後発生に関する免疫組織化学的検索

小澤 一史、辻 麻衣子、河田 光博

京都府立医科大学 大学院医学研究科 解剖学生体構造科学部門

副腎皮質から分泌されるコルチコステロイドは脂溶性物質ホルモンであり、血液脳血管関門を容易に通過して、受容体を介することによって神経系の細胞に直接作用することが知られている。脳内におけるコルチコステロイド受容体には、コルチコステロンやアルドステロンと高い親和性を示すミネラルコルチコイド受容体 (MR) と、コルチコステロンとの親和性は低い、合成グルココルチコイドであるデキサメサゾンと高い親和性を示すグルココルチコイド受容体 (GR) の2種類が存在することが知られている。このうち、GR は海馬領域、視床下部、大脳皮質、扁桃体領域などに豊富に分布しており、血中コルチコステロン量の変化に対応する GR の発現変化は、海馬機能と関連する「記憶」や「学習」と深く関連しており、またストレス応答の中心として働く機能とも密接に関連していることが報告されている。一方、視床下部の室傍核や弓状核といった神経内分泌学的調節機構と密接な関係を持つ神経細胞の多くにも GR が発現していることが知られており、神経内分泌調節の観点からも GR を介したグルココルチコイドの制御が重要な役割を示す。

本研究では、ラット脳における GR の発現、特に生後発生について GR に特異的な抗体を用いた免疫組織化学により、生後1週目、2週目、3週目、4週目、7週目と追求した。海馬領域における GR の免疫染色性は生後1週目ではまだ弱く、陽性細胞数も少ない傾向を示した。2週目、3週目とその染色性は増加し、4週目ではほぼ成熟した7週目のラットの結果と同じになった。また、ステロイドホルモンと協調して働く共役因子である SRC-1、p300 の免疫染色性についても検索したところ、SRC-1 は1週目からすでに比較的強く免疫反応が認められたが、p300 は GR の免疫染色性の変化と平行するように週齢を追って強くなる傾向を示した。一方、視床下部の室傍核や弓状核領域では生後1週目から、すでに海馬領域に比べて強い GR、SRC-1、p300 の発現が観察された。

これらのことから、脳における GR の生後発生は部位によって免疫反応性の違いがあること、また共役因子のうち、p300 の発現は比較的 GR の発現と平行するが、SRC-1 はすでに早期より発現しており、共役因子間での発現に依存性はなく、またかならずしも GR の動きとも一致しないことが示された。

II-C-06

脈絡叢上衣細胞初代培養の培養上清はラット海馬由来神経細胞の突起伸長と生存を促進する

渡邊 裕美、松本 直也、出澤 真理、糸数 裕、吉原 智之、井出 千束

京都大学 医学研究科 生体医学講座 機能微細形態学

【目的】脈絡叢上衣細胞は脳脊髄液を産生する細胞であり、血液脳脊髄液関門を構成する。近年、脈絡叢が様々な栄養因子等を産生しているとの報告はあるものの、脈絡叢から分泌された因子の中枢神経系に対するはたらきを示した報告は殆どない。今回我々はほぼ均一な脈絡叢上衣細胞初代培養を得た。この初代培養の培養上清を用いて、神経細胞に対する作用を調べることにより脈絡叢の中枢神経系に対するはたらきを明らかにする。【方法】Wistar ST ラット (雄、4週齢) より得た脈絡叢上衣細胞の初代培養の24時間培養上清中で、1日齢の Wistar ST ラットの海馬神経細胞を培養した。(1)培養24時間後に細胞を固定・抗 β -tubulin 抗体による染色を行い、 β -tubulin 陽性神経突起の長さの測定を行った。(2)また、培養1、5、24時間後にヘキスト溶液による核染色を行い、細胞死の測定を行った。(3)さらに、脈絡叢上衣細胞の培養上清中の因子の同定の端緒として、限外濾過膜による濃縮、加熱処理、トリプシン処理を行い活性の変化を見た。【結果】(1)脈絡叢上衣細胞培養上清中で培養された海馬神経細胞は神経細胞用培地で培養された神経細胞に比して有意に長い神経突起の伸長を示した。(2)培養24時間後において、基礎培地のみで培養した神経細胞は顕著な細胞死を示したが、脈絡叢培養上清中で培養した神経細胞にはほとんど細胞死は見られず、有意に差があった。(3)脈絡叢上衣細胞の神経突起伸長、および、細胞死抑制効果は分子量50 kDa以上の限外濾過膜による濃縮により保持された。また、この活性は、95°Cの加熱により部分的に、トリプシン処理により完全に失われた。【結論】今回我々の用いた脈絡叢上衣細胞初代培養は、その培養上清中に様々な因子を分泌しており、海馬神経細胞に対し、神経突起伸長、および、細胞死の抑制作用を持つことが示された。また、これらの因子は低分子化合物ではなくタンパク性の因子であろう。生体内においても脈絡叢上衣細胞は脳脊髄液を産生するとともに種々の因子を脳脊髄液中に放出することにより中枢神経系の機能維持に積極的に関与しているであろうことが示唆される。