

＜シンポジウム 19—2＞グリア細胞と神経疾患

脳虚血とアストロサイト

高橋 慎一

(臨床神経 2011;51:1032-1035)

Key words : 脳梗塞, アストログリア, 活性酸素種, ペントースリン酸経路, Keap1/Nrf2システム

はじめに

グリア系細胞は、ニューロンの総数と同等あるいはそれ以上を占める。とくにアストロサイトは、ヒト大脳皮質においてニューロン数の約1.4倍とされ、生物の進化につれてその比率が増加することからも、高度で複雑な脳における重要な機能が示唆される¹⁾。アストロサイトの機能は、他のグリア系細胞が比較的限定的な役割を演じているのにくらべると、きわめて多彩である。とくに注目されるのは脳のエネルギー代謝におけるニューロンへのサポートである²⁾。脳は成人体重の約2%を占めるが、その活動のために必須のエネルギー基質であるグルコースと酸素を消費しつづけることが必要であり、脳のグルコース消費量は全身の約25%、酸素消費量は20%とされる³⁾。このエネルギー基質を供給する脳血流の遮断、すなわち脳虚血とは、エネルギー基質の供給不全と同義であり、そこから惹起される細胞障害性カスケードの総和として急性、亜急性、慢性期にわたって非可逆性の神経系細胞障害をおこす。虚血性細胞障害に対する治療戦略を考える上で、それぞれのタイミングで標的にすべき細胞、分子を明確にすることが求められる⁴⁾。近年、脳循環と神経系細胞を包括的に捉えるキーワードとしてneurovascular unit (NVU)が注目されている。すなわち、微小血管・内皮細胞、ニューロンと、両者に介在するグリア系細胞の代表アストロサイトから成る構造単位である⁴⁾。アストロサイトは、NVUにあって脳微小循環を調節する機能を有し⁵⁾、グルコース代謝において血管から供給されるグルコースの最初の受け取り手になる可能性がある。また、専ら酸化的グルコース代謝に依存する脳にあって、アストロサイトは解糖系優位のグルコース代謝を呈し、総じてニューロンにおけるATP産生を効率的におこなうサポート機能を担う⁶⁾。

酸化ストレスとペントースリン酸経路 (PPP)

グルコース代謝のminor pathwayの1つであり解糖系の迂回路でもあるペントースリン酸経路(PPP)は、ATP産生には寄与しないが、酸化ストレスの軽減に重要な作用を有し、大量のグルコースを酸化的に代謝し続ける脳内で発生する活

性酸素種(ROS)の消去に関与する⁷⁾。すなわち、脳におけるROS消去系としてはグルタチオン・ペルオキシダーゼによるH₂O₂除去が中心であり、この反応には還元型のグルタチオンが必須である。グルタチオンはH₂O₂除去にともなって酸化型となり、NADPHの存在下でグルタチオン・リダクターゼの作用で還元型にもどされる。そしてNADPHを供給することがPPPのもっとも重要な作用である。脳虚血において低酸素環境で障害されるミトコンドリアが、虚血再灌流においてさらに大量のROSを発生し神経障害を増悪させることから、PPPを脳虚血に対する内因性の保護機構として捉えることも可能である。低酸素環境下では、ミトコンドリアにおける電子伝達系の阻害とともに、HIF1 α を介した解糖系の酵素誘導から解糖系主体に代謝が切りかわる。この時に解糖系のシャント路であるPPPへの流入も増加する可能性があるが、主体を成すのはニューロンではなくアストロサイトである。われわれは、ラットの培養ニューロンとアストログリアをもちいて、それぞれのPPP活性を定量した。ニューロンにおけるPPP活性は、単位タンパク当りでアストロサイトの1/5から1/7という結果であった。PPPの第1ステップは解糖系の中間代謝物質であるG6Pから6PGへの変換であり、これがPPPの律速段階となる。これを司る酵素G6PDHaseの活性は、アストロサイトにおいてグルコース濃度依存性に亢進し、高血糖状態で亢進する酸化ストレスに対する保護作用をもたらす⁸⁾。臨床的には脳梗塞急性期に高血糖を是正することが推奨されている反面、大規模な臨床研究では十分なエビデンスがなく、むしろ過度の血糖是正をおこなうことが、必ずしも良好な機能予後につながらない理由を説明している可能性がある⁹⁾。

アストロサイトにおける Keap1/Nrf2 システムによる PPP 活性制御

Kelchlike ECH-associated protein 1/nuclear factor-erythroid-2-related factor 2 (Keap1/Nrf2) システム (Fig. 1) は、生体防御のための普遍的かつ広範な酵素群のマスター・レギュレーターである¹⁰⁾。G6PDHaseもその一つであり、またPPPと連動して作動するグルタチオンの合成酵素や、前述のグルタチオン・ペルオキシダーゼもふくまれる²⁾。これらの酵

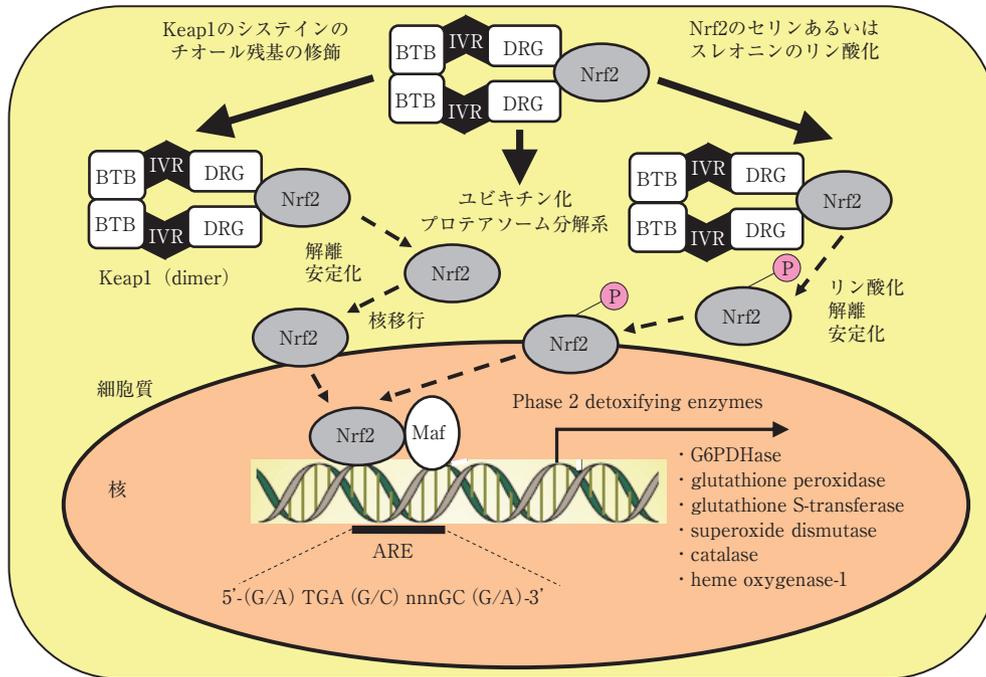


Fig. 1 Keap1/Nrf2 システム.

転写因子である nuclear factor-erythroid-2-related factor 2 (Nrf2) は、通常、細胞質内ではアンカータンパクである Kelchlike ECH-associated protein 1 (Keap1) の dimer に結合し、ユビキチン化されることでプロテアソーム系によって恒常的に分解を受けている。生体ストレスとして、ROS などによる Keap1 のシステインのチオール残基の修飾、種々のリン酸化酵素による Nrf2 のセリンあるいはスレオニンのリン酸化により解離し、Nrf2 は細胞質から核内に移行し ARE に結合することで phase 2 detoxifying enzyme 群の転写を活性化する。これらの酵素群には PPP の律速酵素である G6PDHase をはじめ、PPP と協調して ROS 解毒化に寄与するグルタチオンの合成系、ROS 解毒化に関与する酵素などもふくまれる。

素の遺伝子上流には共通して antioxidant response element (ARE) が存在する。転写因子である Nrf2 が ARE に結合することで転写が開始される。Nrf2 は、非ストレス環境下では細胞質内の anchor protein である Keap1 の dimer と複合体を形成する。この複合体はユビキチン化されることで、常にプロテアソーム系による分解を受けている。生体ストレスが生じた際には、複合体が解離して Nrf2 が核に移行する。核移行のトリガーには 2 つの独立したシグナルがあることが知られている。1 つは、Keap1 のシステインのチオール残基の修飾である、もう 1 つは Nrf2 のセリンあるいはスレオニンのリン酸化である。前者には ROS がふくまれ、ROS 自身がトリガーとなって Nrf2 の核移行をおこし、消去系を活性化するというフィードバック機能が存在する。後者のリン酸化酵素には、いくつかの酵素が知られているが、注目されるのは小胞体ストレスとのクロストークのキー・プレーヤーとなる protein kinase RNA (PKR)-like ER kinase (PERK) である。小胞体ストレスはタンパク合成の停止の後、アポトーシスによる細胞死を惹起する一方で、Keap1/Nrf2 を作動させ、細胞保護を試みるという 2 つの選択をおこなっていることを示す。アストロサイトにおいて、Keap1/Nrf2 が G6PDHase の活性化を通じて、PPP の調節をおこなっている可能性がある。

In vitro 虚血モデルとアストロサイトの PPP 活性

ラット培養ニューロンとアストログリアをもちいた in vitro 虚血モデルとして低酸素 (1%) チャンバー内での負荷実験をおこなった。培養メディウム中のグルコースを除去することで、低酸素+無グルコース負荷とし、さらに 12 時間から 24 時間後に通常酸素 (21%) 環境にもどすと同時に、グルコース含有メディウムで置換し再灌流モデルとした。低酸素チャンバー内で 6 時間以内にメディウム中の酸素分圧は約 50 mmHg に低下した。12~24 時間までの低酸素負荷のみではニューロン、アストロサイトとも明らかな形態的異常を呈さなかった。負荷後 PPP 活性を測定すると、アストロサイトでは活性亢進が惹起されたが、ニューロンには生じなかった (Fig. 2)。また、12 時間の低酸素のみ、あるいは低酸素+無グルコース負荷を加えたアストロサイトを再灌流した 12 時間後にも PPP 活性亢進が惹起された。免疫染色からアストロサイトの PPP 活性亢進時には、小胞体ストレスのマーカーである Bip の発現とともに Nrf2 の核移行が観察された。また細胞によっては Bip 発現をみとめずに Nrf2 の核移行が観察されるばあいがあり、虚血下では小胞体ストレス依存性と非依存

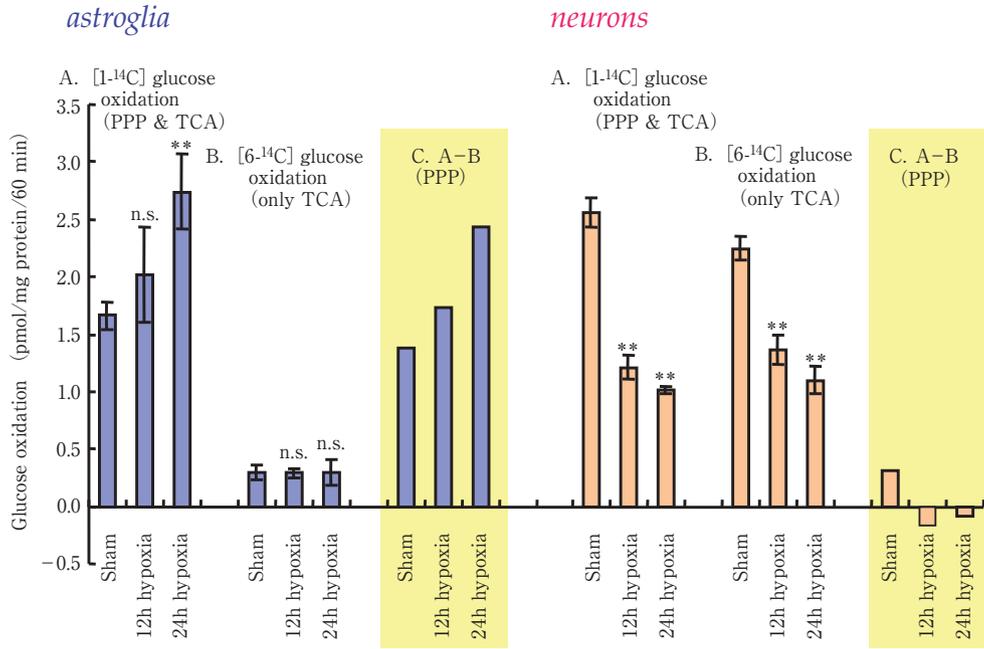


Fig. 2 ラット培養ニューロンとアストログリアへの低酸素負荷後のペントースリン酸経路活性の変化。

ラット培養ニューロンおよびアストログリアに12時間あるいは24時間の1%低酸素負荷をかけ、その直後に測定したペントースリン酸経路(PPP)活性を示す。PPP活性は、A. [1-¹⁴C] および B. [6-¹⁴C] glucose に由来する ¹⁴CO₂ 産生量の差分(A-B)から定量した(黄ハイライト)。

Values are mean ± SD of 4 flasks. n.s., not significant, *p<0.05, **p<0.01 versus sham (Dunnett)

性に Keap1/Nrf2 が作動して、PPP 活性調節をもたらすと推測された。

おわりに

脳虚血急性期におけるアストロサイトの神経保護作用に注目して、グルコース代謝経路から概説した。アストロサイトの機能は多彩であり、時にはむしろニューロンに対して傷害的でもある。アストロサイトは亜急性期、慢性期には活性化し、種々のサイトカインを産生・分泌し炎症反応を惹起することから、これを抑制することも治療戦略の一案であろうが、これまでの臨床研究は必ずしも成功していない。活性化アストロサイトは VEGF 産生を介して血管新生を惹起し、自ら内因性神経幹細胞として神経系細胞を再生させ、NVU 全体の修復を担う可能性がある。脳虚血においてアストロサイト機能を一律に抑制することの是非には慎重な判断が必要であり、脳虚血の時期によって、アストロサイトの機能を制御することが治療戦略として重要である。

文 献

- 1) 高橋慎一. 脳卒中専門医のためのミクロ解剖学: アストロサイト (その機能と虚血時の反応). 分子脳血管病 2006;5: 82-91.
- 2) 高橋慎一. アストロサイトと糖代謝. Clinical Neuroscience 2011;11:1262-1267.

- 3) Clarke DD, Sokoloff L. Circulation and energy metabolism of the brain. In: Siegel G, Agranoff B, Albers RW, et al, editors. Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects. 6th ed. Philadelphia, USA: Lippincott-Raven; 1999. p. 637-669.
- 4) 高橋慎一. 脳虚血と Neurovascular unit. 医学のあゆみ 2009;231:339-346.
- 5) 高橋慎一. アストロサイトと脳循環調節. Annual Review 神経 2008;25-34.
- 6) 高橋慎一. ニューロンとアストロサイトのエネルギー代謝. 脳循環代謝 2010;21:11-16.
- 7) Dienel GA. Energy metabolism in the brain. In: Byrne JH, Roberts JL, editors. From molecules to networks: an introduction to cellular and molecular neuroscience. 2nd ed. London, UK: Academic Press; 2009. p. 49-110.
- 8) Takahashi S, Izawa Y, Suzuki N. Effects of acutely-increasing glucose concentrations on rates of glucose oxidation and ROS production in cultured rat neurons and astroglia. Abstract Society for Neuroscience Program. 2008:#637.11.
- 9) 高橋慎一. 糖尿病の血糖管理と脳卒中. Annual Review 神経 2011;278-292.
- 10) Surh YJ, Kundu JK, Na HK. Nrf2 as a master redox switch in turning on the cellular signaling involved in the

induction of cytoprotective genes by some chemopreven-

tive phytochemicals. *Planta Med* 2008;74:1526-1539.

Abstract

Astroglial protective mechanisms against ROS under brain ischemia

Shinichi Takahashi, M.D.

Department of Neurology, Keio University School of Medicine

Reactive oxygen species (ROS) derived from mitochondria in neural cells play an essential role in the pathophysiology of stroke. Hyperglycemia is also known to enhance ROS production, resulting in oxidative stress. We reported that both acute and chronic high glucose environments enhance the pentose phosphate pathway (PPP) in astroglia, reducing ROS production and thereby providing a neuroprotective role. In particular, chronic hyperglycemia elicits PPP activation through the Keap1/Nrf2 system, which is induced by endoplasmic (ER) stress via an increase in hexosamine biosynthetic pathway flux. We examined the effects of hypoxia with or without glucoprivation on PPP in cultured neurons and astroglia. Hypoxia without glucoprivation for 12 or 24 hours induced PPP activation in astroglia (126% and 177%, respectively) but not in neurons. PPP activation by hypoxia was accompanied by Nrf2 translocation to the nucleus but not by Bip expression in the ER. Re-oxygenation supplemented with glucose after 12 hours of hypoxia with or without glucoprivation markedly enhanced PPP in astroglia (231% and 178%, respectively). Hypoxia induced PPP activation in astroglia, exerting a neuroprotective role. While the Keap1/Nrf2 system seems to be involved, ER stress is not necessarily required.

(*Clin Neurol* 2011;51:1032-1035)

Key words: cerebral infarction, astroglia, reactive oxygen species, pentose-phosphate pathway, Keap1/Nrf2 system
