The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Neuronal apolipoprotein E is not synthesized in neuron after focal ischemia in rat brain
Author(s)	西尾, 雅実
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43865
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【108】

氏　　名	西尾雅実（にしお まさみ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　17678　号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学　位　論　文　名	Neuronal apolipoprotein E is not synthesized in neuron after focal ischemia in rat brain. （ラット脳で虚血後神経細胞に発現するapolipoprotein Eは神経細胞で産生されていない。）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　吉峰　俊樹 （副査） 教　授　遠山　正彌　　教　授　佐古田三郎

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

アポリポプロテインE（ApoE）は血清中の主要なリポプロテインである。脳は肝臓に続き2番目にApoE遺伝子の発現量が多い臓器である。正常のげっ歯類脳ではApoEはグリア細胞で発現を認めるが神経細胞での発現は認めない。しかし、外傷、興奮性損傷や脳出血後では、グリア細胞のApoE発現が増加しているのみならず、神経細胞でのApoE発現が認められている。また、全脳一過性脳虚血後に神経細胞でのApoE発現が認められているが、その起源はあきらかでない。本実験では局所脳虚血後のApoE発現とその起源を調べることを目的とした。

【方法】

左中大脳動脈永久閉塞モデルを田村らの方法に準じ作成した。抱水クロラール腹腔内投与後左中大脳動脈を起始部で電気凝固し、切断した。1、2、3、4、7、14、28日後に各4匹のラットより脳を取り出し、急速凍結保存、冠状断切片を作成した。

免疫組織染色は、ABC法によって、抗ApoE抗体を用いて行った。ApoE陽性細胞の種類を明らかにするためにApoE免疫染色後、抗GFAP抗体、抗NeuN抗体、抗ED-1抗体を用いて2重染色を行った。

ApoE遺伝子発現の検出は^{35}Sラベルしたオリゴプローベを用いたin situ hybridization法により行った。また、ApoE遺伝子発現陽性細胞の種別を明らかにするため、in situ hybridization後、抗GFAP抗体、抗NeuN抗体、抗ED-1抗体による免疫組織染色を行った。

【成績】

免疫組織染色の結果、対照群では、弱いApoE染色性をグリア細胞に認めた。虚血3日後、虚血中心部と周辺領域に強いApoE染色性を認めた。虚血周辺部にみられるApoE陽性の小さい細胞は2重染色よりGFAP陽性でありグリア細胞であった。4日後には、ApoEは虚血周辺部の大型細胞にも認め、NeuN陽性であることよりこの細胞は神経細胞であった。一方、虚血中心部では3日目より比較的大型の細胞の浸潤を認めた。この細胞はApoEとED-1の両

方が陽性であり ApoE 陽性マクロファージであった。

7日後にはグリア細胞の ApoE は最も強く陽性となり、ApoE 陽性の神経細胞は障害側大脳半球虚血周辺部の比較的広い範囲で認められた。グリア細胞、マクロファージ、神経細胞での ApoE 陽性は、14 日目まで続いたが、28 日目にはコントロールレベルにもどった。

In situ hybridization 法では、マクロオートラジオグラムで3日目より虚血中心部と梗塞周辺域で ApoE 遺伝子発現の増加を認めた。ApoE 遺伝子発現の増加は7日目に最大となった。ミクロオートラジオグラムの結果、梗塞周辺領域で GFAP 陽性細胞が ApoE 遺伝子発現陽性であった。しかし NeuN 陽性細胞では ApoE 遺伝子信号は認めなかった。虚血中心部では浸潤した ED-1 陽性細胞が ApoE 遺伝子発現陽性であった。

これらの結果より、虚血後の ApoE はグリア細胞、マクロファージでは産生されているが、神経細胞では産生されていないと考えられた。神経細胞の ApoE の起源に関しては、グリア細胞より放出された可能性や、透過性の亢進した血液脳関門を通過し血液中より取り込まれた可能性がある。ApoE 陽性のグリア細胞と神経細胞の位置が近いことより神経細胞の ApoE はグリア細胞を起源とする可能性が高いと推測された。

【総括】

局所虚血後グリア細胞、マクロファージ、神経細胞で ApoE 蛋白は陽性であった。一方 ApoE 遺伝子発現はグリア細胞、マクロファージでは認められたが、神経細胞では認めなかった。神経細胞での ApoE 蛋白は紳経細胞で産生されていないことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

アポリポプロテイン E（ApoE）は、脂質の輸送という役割が知られているが、本論文は、脳梗塞モデルにおける ApoE の蛋白と mRNA の発現を細胞レベルで検討したものである。梗塞周辺部の神経細胞で ApoE 蛋白は陽性であるが mRNA 発現は認めないことからこの蛋白は細胞外からの取り込みによる可能性が考えられることを示唆している。また、虚血巣に浸潤したマクロファージで ApoE の mRNA 発現がおこっていることなどの新しい知見が得られている。脳虚血時の組織の修復や再生のメカニズムに新たな知見を加えたものであり、学位に値すると考える。