

140 脳虚血耐性における乳酸の役割の解明	平山 友里
-----------------------	-------

**【目的】** 虚血耐性とは、先行して非侵襲的な短時間虚血（preconditioning : PC）を経験することにより、その後の侵襲的な長時間虚血に対する抵抗性を獲得する現象である。我々はこれまでに、グリア細胞の一種であるアストロサイトが PC によって活性化し、ATP 受容体である P2X7 受容体を発現亢進することで脳虚血耐性を誘導することを明らかにしてきた（アストロサイト依存的脳虚血耐性）。しかし、P2X7 受容体の下流のメカニズムについては不明であった。そこで我々は、このメカニズムの解明のために予備実験を行ったところ、アストロサイトから P2X7 受容体依存的に放出される「乳酸」が虚血耐性に関与することを示唆する結果が得られた。本研究は、「脳虚血耐性による保護作用はアストロサイト P2X7 受容体依存的な乳酸放出により誘導される」との仮説を提唱し、マウス一過性脳虚血モデルを用いてその仮説の検証及び乳酸放出制御機構を明らかにすることで、新しい脳卒中治療戦略の開発につなげることを目的とした。

**【方法】** *In vivo* 実験では、既に作製済みである全身性 P2X7 受容体欠損（P2X7-KO）マウスと野生型（WT）マウスを用いた。一過性脳虚血モデルは中大脳動脈閉塞（MCAO）の手技にて作製し、短時間虚血（PC）は 15 分間 MCAO、長時間虚血は 1 時間 MCAO を使用して脳虚血耐性モデルを作製した。脳虚血時の細胞外乳酸濃度は *in vivo* マイクロダイアリシス法を用いて測定した。乳酸輸送担体等の局在は免疫組織化学による二重染色にて確認した。*In vitro* 実験では、アストロサイト初代培養系を用い、P2X7 受容体依存的な乳酸放出のメカニズムを解析した。

**【結果】** MCAO の手技にて一過性脳虚血モデルを作製し、1 時間 MCAO 中の細胞外乳酸濃度を測定したところ、PC を予め負荷したマウスは PC なしのマウスと比較して有意に細胞外乳酸濃度が上昇していたが、その現象は P2X7-KO マウスでは見られなかった。また、乳酸の脳室内投与は 1 時間 MCAO により惹起される脳梗塞体積を顕著に縮小させることもわかった。PC 後の活性化アストロサイトでは、乳酸放出に関与する輸送体 MCT1、MCT4、それら輸送体のシャペロンである CD147 の発現が増加していた。アストロサイト初代培養系を用いた *in vitro* 実験により、P2X7 受容体活性化は CD147 発現を亢進し、MCT1 と MCT4 の膜発現を CD147 依存的に促進することが明らかとなった。さらに、PC による 1 時間 MCAO 中の細胞外乳酸濃度上昇は CD147 中和抗体の投与により抑制され、虚血耐性効果も見られなかった。従って本研究により、アストロサイトは P2X7 受容体依存的な乳酸放出により虚血耐性を誘導することが示唆された。

アストロサイト依存的脳虚血耐性の作用機序

