

日本臨牀 80 卷 増刊号 2 (2022 年 2 月 28 日発行) 別刷

最新臨床脳卒中学 (第 2 版) 下

—最新の診断と治療—

XXVI. 基礎研究の動向

アストロサイト

小泉修一

アストロサイト

Astrocytes

小泉修^{1,2}**Key words** : アストロサイト, 虚血耐性, 細胞外 ATP, 脳保護

はじめに

脳は神経細胞とグリア細胞により構成されているが、その数はグリア細胞が数倍も多い。グリア細胞は、アストロサイト、オリゴデンドロサイトおよびミクログリアの3種類に大別され、それぞれの機能、例えば神経伝達物質除去、老廃物処理、ミエリン鞘構成による跳躍伝導の実現、さらに免疫細胞としての役割等々、脳の裏方としての古典的な役割はこれまでよく知られていた。しかし、ここ10数年の間にグリア細胞が脳の中核機能である情報の処理および発信で中心的な役割を果たしていることが次々と明らかとなってきた¹⁾。

グリア細胞は、各種神経伝達物質受容体、イオンチャネル、輸送体などを発現しており、刺激に応答して「グリア伝達物質」と呼ばれる化学伝達物質を放出することで、周囲の神経細胞と双方向性のコミュニケーションをとる²⁾。このような即時的な作用に加え、グリア細胞は種々のシナプス新生分子産生およびシナプス刈り込み機能によりシナプスおよび神経ネットワークを再編し、脳機能の長期的な制御でも重要な役割を果たしている³⁾。さらに、種々の脳

疾患とグリア細胞異常が密接に関係していることも明らかになり、グリア細胞は脳疾患の理解においてはさらに重要であるといえる。

脳卒中は、本邦の死亡原因第4位で、一命を取り留めた後も大きな後遺症に悩まされる場合が多い重篤な疾患である。実際、要介護5に至る原因疾患の第1位は脳卒中である。これまでに脳卒中治療および予後改善を目指し、神経細胞を標的とした1,000以上の脳保護薬開発が行われたが、満足な治療効果を呈する薬剤がほとんどなかった⁴⁾。これを踏まえ、脳研究の世界的リーダーであった故 Barres 博士は「グリア細胞は脳を救う方法を知っているのに脳科学者はまだそれを知らない」という独特の言葉で現在の脳科学研究を皮肉っている⁵⁾。

脳梗塞早期の tPA (tissue plasminogen activator) 療法を除き、神経細胞を標的とした脳卒中治療薬の開発は苦戦しているが、「虚血耐性」の研究は大きく進んだといえる。虚血耐性とは、先行して非侵襲的虚血(プレコンディショニング: PC)を経験すると、その後の侵襲的虚血に対する抵抗性が獲得される現象であり、虚血に最も脆弱な臓器である脳でも臨床的および実験的に認められる現象である(図 1-a, b)。

Schuichi Koizumi: ¹Department of Neuropharmacology, Interdisciplinary Graduate School of Medicine, University of Yamanashi 山梨大学大学院総合研究部医学域 薬理学 ²GLIA Center, University of Yamanashi 同 GLIA センター

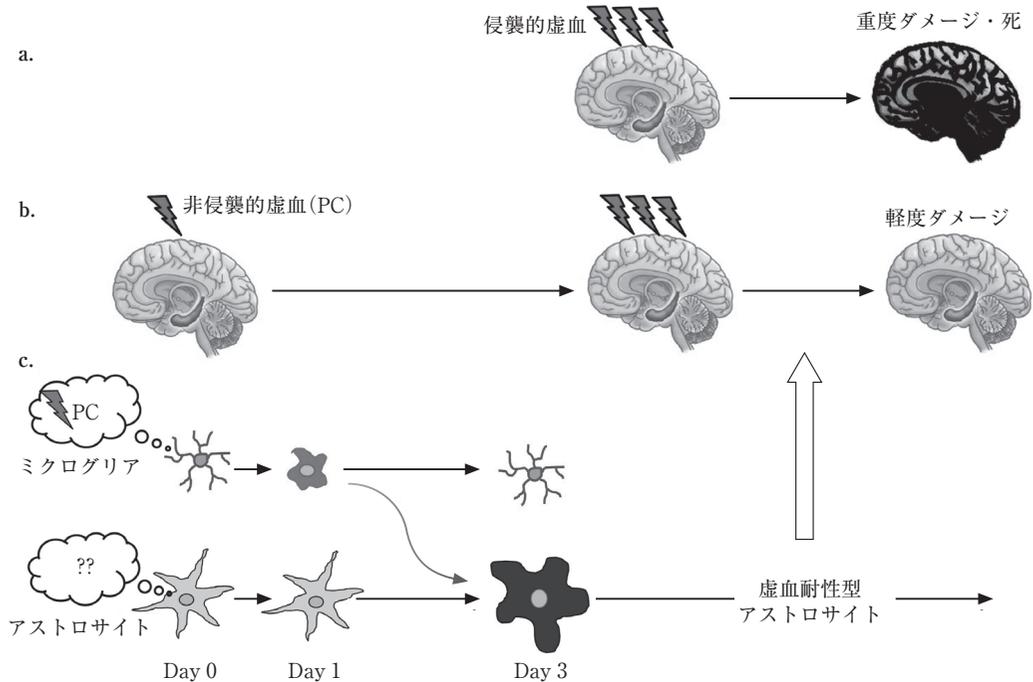


図1 虚血耐性

a: 侵襲的虚血に曝露された脳では、重篤な神経細胞障害・細胞死が起こる。b: 侵襲的虚血に先行して軽度な非侵襲的虚血(PC)を経験すると、侵襲的虚血により惹起されるダメージは著しく抑制される。これが虚血耐性である。c: ミクログリアはPCを感知すると、素早く活性化型となる(day 1)。アストロサイトはday 1では変化しないが、day 3には活性化した反応性アストロサイトへと変化する。アストロサイトのこの変化は、先行して活性化しているミクログリアにより引き起こされる(ATPおよび炎症性サイトカイン)。PCにより誘導された反応性アストロサイトは、虚血耐性の獲得に必須の役割を果たしている(虚血耐性型アストロサイト)。

脳虚血耐性の分子メカニズム研究もまた、神経細胞に注目した研究が行われており⁶⁻⁹⁾、これではBarres博士の言う「グリア細胞は脳を救う方法を知っている」には到底たどり着けていない。しかし最近、脳虚血耐性獲得のメカニズムに、グリア細胞が非常に大きな役割を果たしていることが分かってきた。以下、グリア細胞、特にアストロサイトに注目し、脳虚血耐性におけるグリア細胞の役割について述べる¹⁰⁻¹²⁾。

1. 虚血耐性

虚血耐性現象は1986年に初めて心臓で認められた現象である¹³⁾。しかし、他の多くの臓器、例えば肺、腎臓、肝臓、骨格筋、さらに虚

血に対して最も脆弱な脳でも認められることが明らかとなり、またその強力な脳保護作用もあって基礎研究はもちろん、トランスレーショナルリサーチとして実用化研究も大きく進んだ。脳虚血耐性の発見は、スナネズミの*in vivo*脳虚血モデルを用いた研究で、日本から発表された研究であり¹⁴⁾、その後も本分野の発展には日本人研究者が大きな貢献をしている^{15,16)}。

非常に面白いことに、虚血耐性を誘導するための先行刺激PCは、必ずしも同じ刺激負荷である必要がないことである。例えば、感染を模したlipopolysaccharide(LPS)を末梢に先行負荷した場合でも、その後の侵襲的脳虚血に対する抵抗性は誘導され、これはクロス虚血耐性と呼ばれる¹⁶⁾。他にも、化学物質のPCによるケミカル虚血耐性、脳から遠く離れた後肢に先行

負荷を与えるリモート虚血耐性などの存在も明らかとなっている¹⁷⁾。クロス虚血耐性およびリモート虚血耐性の発見は、臨床応用を考えると非常に重要な発見であり、また同時にまだ不明点が多い虚血耐性の分子メカニズムの解明においても非常に有用であるといえる。

2. ミクログリアおよびアストロサイトと虚血耐性

一過性中大脳動脈閉塞(MCAO)モデルマウスにおいて、PCによりまず最初に強い変化が認められる細胞はミクログリアである(図 1-c)。ミクログリアは環境変化に非常に敏感な細胞であるため、軽微な PC であっても大きく反応する。これが虚血耐性獲得のスイッチになっている可能性が高い。また、前述した LPS を PC として使ったりリモート虚血耐性誘導の場合にも、最初に応答するのはミクログリアである。ミクログリアが応答する PC 後 1~2 日は、虚血耐性はまだ獲得できない時期である。

その後、アストロサイトが glial fibrillary acidic protein(GFAP)強陽性のいわゆる「反応性アストロサイト」に変化し、これと相まって虚血耐性が起こる¹⁰⁾(図 1-c)。このときミクログリアは PC 前と同様の状態に戻ってしまう。従って、PC を感知したミクログリア自身が直接虚血耐性を起こすというよりは、むしろアストロサイトに情報を伝え活性化させることで、虚血耐性の誘導に関与していることが示唆される(図 1-b)。アストロサイト活性化は少なくとも数週間にわたって観察されるが、この間、虚血耐性も認められ、さらに活性化アストロサイト抑制薬 fluorocitrate(FC)は虚血耐性を消失させた¹⁰⁾。従って、PC 後の反応性アストロサイトは「虚血耐性型アストロサイト」として虚血耐性誘導で中心的な役割を果たしていることが明らかとなった。

反応性アストロサイトの定義は難しく、現在は GFAP の発現亢進および微小突起の退縮・細胞体増大を特徴とする、形態学的な変化で定義されている。幾つかのグループが反応性アス

トロサイトの分類を試み、Liddelow らの RNaseq 発現パターンによる 2 分類、つまり細胞障害性「A1 型」および細胞保護性「A2 型」アストロサイト、がその単純さと分かりやすさからよく使われている¹⁸⁾。しかし、この余りに安易な分類に対する反論も多く、病態の種類や進行度、さらに複数の指標による再分類の必要性が指摘されている¹⁹⁾。反応性アストロサイトは、炎症の増強、グリア瘢痕形成による軸索伸展阻害など、どちらかというところ神経障害性の性質が強くクローズアップされてきていた。しかし、A1/A2 の分類でも分かるように、神経保護型の表現型が存在する。では反応性アストロサイトはどのようにして虚血耐性を誘導するのであろうか？

3. アストロサイト依存的虚血耐性の分子メカニズム

PC により惹起されるイベントのスクリーニングにより、PC 直後から細胞外 ATP(アデノシン三リン酸)濃度が上昇することが分かった。細胞内 ATP はエネルギーの通過であるが、細胞外 ATP は細胞間伝達物質として種々の臓器で重要な役割を果たし、特に脳ではアストロサイト-神経細胞間コミュニケーションで中心的な役割を果たすグリア伝達物質である²⁾。この細胞外 ATP を受容する ATP 受容体には 15 種類が知られているが、PC によりイオンチャネル型 ATP 受容体「P2X7 受容体」がアストロサイト特異的に強く発現することが明らかとなった¹⁰⁾。

P2X7 受容体は炎症や細胞死と関連する ATP 受容体として知られ、正常脳では特にミクログリアに多く発現している。しかし PC により、P2X7 受容体はアストロサイトで正常時の 100 倍以上に発現し、その発現の時空間パターンはアストロサイトの反応性化および虚血耐性獲得の時間経過とよく相関していた。さらに P2X7 受容体欠損マウスでは、この虚血耐性は完全に消失した。従って、PC により虚血耐性型となった反応性アストロサイトは、P2X7

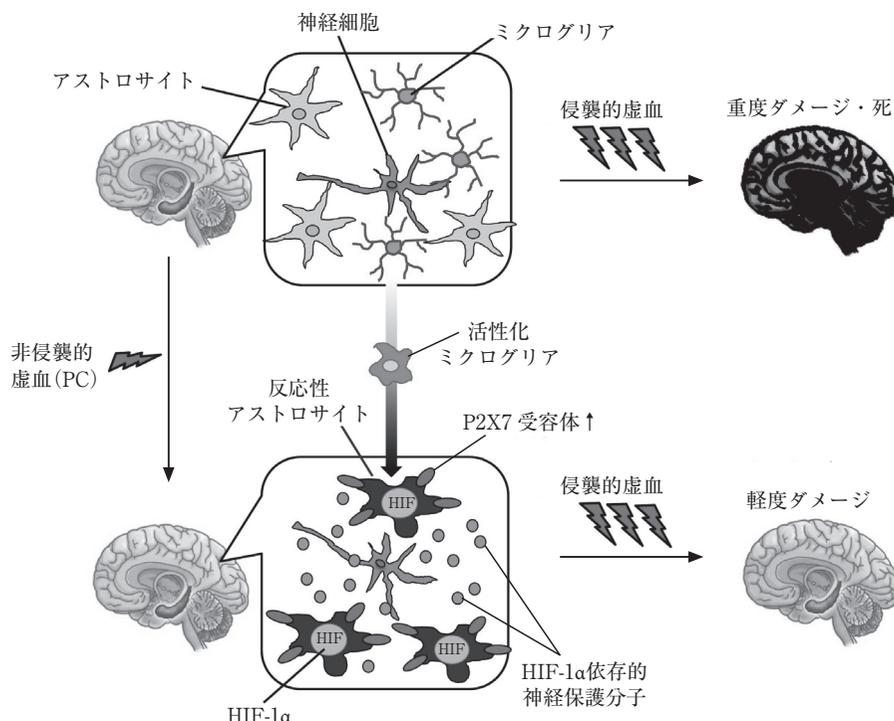


図2 アストロサイトによる虚血耐性の誘導メカニズム

上段：侵襲的虚血を負荷すると、脳は重度ダメージおよび神経細胞死を引き起こす。

中段：PCによりまずマイクログリアが活性化型へと大きく変化する。

下段：PC後3日程度で、アストロサイトはマイクログリア依存的に活性化し、P2X7受容体を強く発現させ、虚血耐性型アストロサイトに変化する。P2X7受容体活性化によりアストロサイトは持続的にHIF-1αの発現を亢進させる。アストロサイトのHIF-1αは、神経細胞などのように低酸素・虚血依存的に細胞内に蓄積するのではなく、P2X7受容体活性化に依存して発現が亢進する。アストロサイトは、このHIF-1α依存的に神経保護分子 erythropoietin (EPO) や vascular endothelial growth factor (VEGF) を発現することで、その後の侵襲的虚血に対する抵抗性、虚血耐性を誘導する。

受容体を発現させることで虚血耐性を誘導することが明らかとなった。

P2X7受容体はATP受容体の中で最もATPに対する感度が低い受容体である。P2X7受容体の活性化には、0.5~1 mmol/Lもの高濃度ATPが必要であり、これはネクローシスなどにより細胞が破裂した際の濃度に匹敵する。PCは非常に弱く、細胞障害をほとんど伴わない負荷であるため、このような高濃度ATPが漏出することは考えにくい。実際PC後の細胞外ATP濃度上昇は~1 μmol/L程度であった¹²⁾。しかし最近、PC後の反応性アストロサイトはecto-ADP-ribosyltransferase 2 (ARTC2)発現を誘導することでP2X7受容体をADP-リ

ボシル化し、ATPに対する感度を数百倍にまで亢進させることが明らかとなった¹²⁾。ARTC2の阻害薬は、PCによる虚血耐性を消失させた。このように、アストロサイトは実に巧妙なメカニズムを有し、虚血耐性の獲得で中心的な役割を果たしていることが明らかとなった。

アストロサイトのP2X7受容体から虚血耐性獲得に至るメカニズムは何であろうか？アストロサイトP2X7受容体依存的分子の網羅的スクリーニングにより、hypoxia inducible factor-1α (HIF-1α)を見いだした。HIFは、酸素恒常性を制御するマスター分子であり、特に神経細胞では、HIF-1αは低酸素時に細胞内に蓄積し、核内に移動し、HIF-1βと2量体を形成することで、

100 種類以上もの重要な分子の転写制御を行う。HIF-1 α は恒常的に細胞内で作られているが、酸素依存的な分解酵素による早い代謝を受けるため、正常に酸素が供給されている条件ではほとんど機能せず、低酸素依存的に機能スイッチが ON となる。しかし神経細胞とは異なり、アストロサイト HIF-1 α は低酸素非依存的に蓄積するのではなく、むしろ P2X7 受容体依存的シグナルにより発現が亢進する。また、反応性アストロサイトの P2X7 受容体の発現亢進は持続的であるが(数週間)、HIF-1 α 発現もやはり持続する。これらにより、HIF-1 α 依存的に erythropoietin⁶⁾ および vascular endothelial growth factor⁷⁾ などの各種脳保護分子の転写亢進も持続し、脳内に十二分な神経保護分子が産生され続けることで、強力かつ持続的な虚血耐性が起こることが明らかとなった(図 2)。

おわりに

虚血耐性獲得におけるグリア細胞の重要性を、特に反応性アストロサイトに注目して最近の知見を紹介した。反応性アストロサイト自体

の重要性はもちろんであるが、実際には、ミクログリアおよび他の周辺細胞とのコミュニケーションにより、虚血耐性型アストロサイトとしての表現型を獲得し、また虚血耐性を誘導している可能性が高い。

本稿は、これまでの神経細胞を中心に解析されてきた虚血耐性の分子メカニズムに関する多くの研究成果と一部矛盾するように思えるが、そうではない。これまで見いだされていた神経細胞依存的な虚血耐性獲得メカニズムも、神経細胞自律的なものではなく反応性アストロサイトとのコミュニケーションにより生じた神経細胞非自律的なメカニズムが含まれている、と考えるとつじつまが合う。脳機能におけるアストロサイトなどグリア細胞の重要性が、特に各種脳疾患との関係で強く示唆されるようになり、グリア細胞そのものの研究が大きく進展している。しかし、グリア細胞間、グリア細胞-神経細胞間の細胞間コミュニケーションを介して、グリア細胞の重要性が発揮されていることも今一度再確認した上で、今後の研究を進める必要があるといえる。

文 献

- 1) Haydon PG: GLIA: listening and talking to the synapse. *Nat Rev Neurosci* **2**: 185-193, 2001.
- 2) Koizumi S, et al: Dynamic inhibition of excitatory synaptic transmission by astrocyte-derived ATP in hippocampal cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**: 11023-11028, 2003.
- 3) Kim SK, et al: Cortical astrocytes rewire somatosensory cortical circuits for peripheral neuropathic pain. *J Clin Invest* **126**: 1983-1997, 2016.
- 4) O'Collins VE, et al: 1,026 experimental treatments in acute stroke. *Ann Neurol* **59**: 467-477, 2006.
- 5) Barres BA: The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron* **60**: 430-440, 2008.
- 6) Prass K, et al: Hypoxia-induced stroke tolerance in the mouse is mediated by erythropoietin. *Stroke* **34**: 1981-1986, 2003.
- 7) Bernaudin M, et al: Normobaric hypoxia induces tolerance to focal permanent cerebral ischemia in association with an increased expression of hypoxia-inducible factor-1 and its target genes, erythropoietin and VEGF, in the adult mouse brain. *J Cereb Blood Flow Metab* **22**: 393-403, 2002.
- 8) Liu Y, et al: Temporal profile of heat shock protein 70 synthesis in ischemic tolerance induced by preconditioning ischemia in rat hippocampus. *Neuroscience* **56**: 921-927, 1993.
- 9) Terasaki Y, et al: Activation of NR2A receptors induces ischemic tolerance through CREB signaling. *J Cereb Blood Flow Metab* **30**: 1441-1449, 2010.
- 10) Hirayama Y, et al: Astrocyte-mediated ischemic tolerance. *J Neurosci* **35**: 3794-3805, 2015.
- 11) Hirayama Y, Koizumi S: Hypoxia-independent mechanisms of HIF-1 α expression in astrocytes after ischemic preconditioning. *Glia* **65**: 523-530, 2017.
- 12) Hirayama Y, et al: Mechanisms underlying sensitization of P2X7 receptors in astrocytes for

- induction of ischemic tolerance. *Glia* **69**: 2100–2110, 2021.
- 13) Murry CE, et al: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* **74**: 1124–1136, 1986.
 - 14) Kitagawa K, et al: 'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain. *Brain Res* **528**: 21–24, 1990.
 - 15) Kitagawa K, et al: 'Ischemic tolerance' phenomenon detected in various brain regions. *Brain Res* **561**: 203–211, 1991.
 - 16) Kirino T: Ischemic tolerance. *J Cereb Blood Flow Metab* **22**: 1283–1296, 2002.
 - 17) Ren C, et al: Limb remote-preconditioning protects against focal ischemia in rats and contradicts the dogma of therapeutic time windows for preconditioning. *Neuroscience* **151**: 1099–1103, 2008.
 - 18) Liddelow SA, et al: Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* **541**: 481–487, 2017.
 - 19) Escartin C, et al: Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions. *Nat Neurosci* **24**: 312–325, 2021.
-