

## 平成14年度美原賞受賞講演要旨

「虚血による遅発性神経細胞死の研究」

東京大学医学部脳神経外科

桐野高明

海馬のCA1領域が虚血や重症のてんかんなどによって障害されやすいことは古くからよく知られていた。海馬が短期記憶に必須の部位であることは、すでにほぼ確立された事実であるので、海馬 CA1 神経細胞の脆弱性は、一方では海馬硬化が原因の一つと考えられる側頭葉てんかんの発症と、もう一方では虚血にともなう短期記憶の障害とからんでいることになる。齧歯類の前脳(または全脳)に高度の虚血を5-10分負荷すると、海馬 CA1 領域にほとんど選択的な神経細胞死が起きる。虚血の時間を長くして行くと、以前から知られていた通り、線条体、大脳皮質に神経細胞死が広がっていくことから、海馬 CA1 領域は最も虚血に脆弱な部位として広く認められることになった。脳は一般的に虚血に対する耐久性を欠如しており、人体の中で虚血、無酸素、低血糖などのエネルギー代謝障害に最も脆弱な臓器が脳である。

海馬 CA1 領域の神経細胞は5分程度の虚血が加わると、ほとんどが死滅するが、その進行はきわめて緩やかで、これをもって遅発性神経細胞死(delayed neuronal death)と呼ばれるようになった。時間的な経過は、明らかな細胞死の形態学的特徴を呈するまでに数日というものであり、また齧歯類のみならず、大型動物からヒトに至るまで同じように認められることも後に示された。このようにして遅発性神経細胞死は広く注目を集めるようになってきた。その理由は、一つは従来広く研究されていた海馬 CA1 領域にある神経細胞のほとんどが死滅するものの、神経細胞のみが選択的に死ぬのであって局所のグリア細胞や血管内皮細胞は残ること、もう一つは細胞死に至る経過が非常に緩やかなことであろうと思われる。この緩やかな細胞死の間には、一時的に膜電位も回復し、エネルギー代謝やグルコース代謝も正常化する。あたかも一度回復するかのように見えた神経細胞が、結局は死滅するために、その可逆性をめぐって種々の実験がなされることとなった。

このモデル系を用いた脳虚血研究により、現象面でわかってきたことは、脳では虚血にともなうグルタミン酸神経伝達と細胞内カルシウムの動態が重要である点、脳においても短時間の虚血が一過性の耐久性(虚血耐性)を誘導することがわかってきた点、そして最近になって明らかとなってきた海馬 CA1 領域での神経前駆細胞による再生・修復現象などであろう。海馬 CA1 の遅発性神経細胞死という一つのモデル系を用いて見えるようになったことを紹介したい。遅発性神経細胞死は *in vivo* で神経細胞死を

詳細に観察できるモデル系であり、この系を用いた分析的方法によって有効な治療原理が見いだされることができ日の来ることを期待したい。

## DELAYED NEURONAL DEATH FOLLOWING CEREBRAL ISCHEMIA

Takaaki Kirino, M.D., Ph.D.

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, The University of Tokyo

It has been well known that the CA1 sector of the hippocampus is extremely vulnerable to cerebral ischemia or severe epileptic seizure. The vulnerability of CA1 neurons accounts for the cause of temporal lobe epilepsy since it is believed to arise from Ammon's horn sclerosis due to the loss of CA1 neurons. On the other hand, since the hippocampus is the structure that functions in memory processing, the susceptibility of CA1 neurons is related to loss of short-term memory due to cerebral ischemia. Following a brief forebrain (or global) ischemia for 5-10 minutes, most of CA1 neurons are selectively destroyed. If the duration of ischemia is prolonged, ischemic damage expand to the striatum and cerebral cortex. The brain lacks a tolerance to ischemic brain injury and is the most vulnerable organ to the state of energy failure that is caused by ischemia, anoxia, or hypoglycemia. The hippocampus is the most vulnerable among those vulnerable structures in the brain.

When the hippocampal CA1 region is subjected to a very brief ischemia (around 5 minutes), most of CA1 neurons are killed. The process of cell damage, however, is extremely slow and delayed. This characteristic of cell death process led to the nomenclature, "delayed neuronal death". It takes for several days until overt morphological change of cell damage comes out. This delayed progression is seen not only in rodent but also in much larger animals including humans. The process of delayed neuronal death has attracted wide attention among researchers of cerebral ischemia because the death process takes place selectively in neurons and glial cells and vascular endothelia remain intact. It also attracted interest because the cell death process is very slow. During this delayed cell destruction, the membrane potential recovers, and energy metabolism and glucose metabolism are restored to normal. CA1 neurons die as if they once recover completely and then they are killed 3-4 days following ischemia. These characteristics prompted further investigations to solve the enigma of selective vulnerability of neurons to ischemia.

Using delayed neuronal death as a model system, there appeared several facts that could govern the fate of the brain following ischemic insults. One is that extracellular glutamate and intracellular free calcium are the determinants of ischemic brain injury. However, this is yet to be proved and still remains hypothetical. Another is that, once the brain is subjected to sublethal ischemia, it could acquire a transient tolerance to subsequent ischemia. This property of the brain is common with general cellular response, but may be deeply related to survival and death of CA1 neurons. The third finding is that CA1 neurons can regenerate at least in young adult rats following brief ischemia. This regeneration takes place by activation of endogenous neural progenitor cells. As a model system, delayed neuronal death in the hippocampal CA1 sector is reliable and reproducible. It will hopefully contribute to the discovery of new treatment strategy for ischemic brain injury in humans.

## REFERENCES

1. Kirino T: Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res* 239,57-69 (1982).
2. Kirino T, Sano K: Selective vulnerability in the gerbil hippocampus following transient ischemia. *Acta Neuropathol (Berl)* 62,201-208 (1984).
3. Kirino T, Sano K: Fine structural nature of delayed neuronal death following ischemia in the gerbil hippocampus. *Acta Neuropathol (Berl)* 62,209-218 (1984).
4. Kirino T, Tamura A, Sano K: Delayed neuronal death in the rat hippocampus following transient forebrain ischemia. *Acta Neuropathol (Berl)* 64,139-147 (1984).
5. Kirino T, Tamura A, Sano K: Chronic maintenance of presynaptic terminals in gliotic hippocampus following ischemia. *Brain Res* 510,17-25 (1990).
6. Kirino T, Tsujita Y, Tamura A: Induced tolerance to ischemia in gerbil hippocampal neurons. *J Cereb Blood Flow Metab* 11,299-307 (1991).
7. Kirino T, Robinson HPC, Miwa A, Tamura A, Kawai N: Disturbance of membrane function preceding ischemic delayed neuronal death in the gerbil hippocampus. *J Cereb Blood Flow Metab* 12,408-417 (1992).
8. Nakagomi T, Kirino T, Kanemitsu H, Tsujita Y, Tamura A: Early recovery of protein synthesis following ischemia in hippocampal neurons with induced tolerance in the gerbil. *Acta Neuropathol (Berl)* 86,10-15 (1993).
9. Morimoto T, Ide T, Ihara Y, Tamura A, Kirino T: Transient ischemia depletes free ubiquitin in the gerbil hippocampal CA1 neurons. *Am J Pathol* 148,249-257 (1996).
10. Morikawa E, Mori H, Kiyama Y, Mishina M, Asano T, Kirino T: Attenuation of focal ischemic brain injury in mice deficient in the epsilon1 (NR2A) subunit of NMDA receptor. *J Neurosci* 18,9727-9732 (1998).
11. Ide T, Takada K, Qiu JH, Saito N, Kawahara N, Asai A, Kirino T: Ubiquitin stress response in postischemic hippocampal neurons under nontolerant and tolerant conditions. *J Cereb Blood Flow Metab* 19,750-756 (1999).
12. Qiu JH, Asai A, Chi S, Saito N, Hamada H, Kirino T: Proteasome inhibitors induce cytochrome c-caspase-3-like protease-mediated apoptosis in cultured cortical neurons. *J Neurosci* 20,259-265 (2000).
13. Asai A, Tanahashi N, Qiu JH, Saito N, Chi S, Kawahara N, Tanaka K, Kirino T: Selective proteasomal dysfunction in the hippocampal CA1 region after transient forebrain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 22,705-710 (2002).
14. Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S, Hatano O, Kawahara N, Tamura A, Kirino T, Nakafuku M: Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell* 110,429-441 (2002).
15. Kirino T: Ischemic tolerance. (Review) *J Cereb Blood Flow Metab* 22,1283-1296 (2002).