

Clioquinol の神経細胞に対する傷害作用 (3)

豊島 至 (国立病院機構あきた病院神経内科)

和田 千鶴 (国立病院機構あきた病院神経内科)

研究要旨

ニワトリ後根神経節の初代培養神経細胞で clioquinol の細胞傷害作用を検討した。昨年報告のデジタル微分干渉顕微鏡 / ビデオ増強法により、clioquinol の種々の濃度について観察した。その結果、clioquinol 濃度が 1-20 μ M の範囲で軸索輸送速度はほぼ一定に保たれることが解った。20 μ M での軸索障害が明らかであることから、clioquinol の毒性は輸送速度に直接働きかける機構ではないことが示唆された。

A. 研究目的

これまで、Clioquinol は培養細胞の種類によらず、20 μ M 以上で細胞死をきたすことを報告してきた。体細胞由来、神経細胞由来の正常細胞、腫瘍細胞ではほぼ同様の細胞傷害濃度を示した。今回は、初代培養神経細胞を用いて、速い軸索輸送を観察し細胞障害濃度について検討した。

B. 研究方法

受精鶏卵 14~15 日胚の後根神経節を用いた。培養法は前回報告に準じた。Matrigel (Corning) を用い、カバーガラスは 24 x 40mm とした。初日の培養は血清不含の GIT 培地とした。

デジタル微分干渉顕微鏡 / ビデオ増強法は BX-63 正立顕微鏡 (オリンパス) に 4 倍中間レンズを加え、光源には X-cite (Lumen Dynamics) またビデオカメラは Zyla (Andor) とした。ビデオ記録は 33 フレーム/秒のビデオレート程度とし 15 秒連続で画像取得した。小胞輸送計測には Metamorph の自動トラッキングを用いた。

C. 研究結果

培養 24 時間後には神経細胞の一部から突起がでて軸索様となる。これに対し、1, 5, 10, 15, 20 μ M の clioquinol (Sigma, in DMSO) を添加したフェノール

レッド不含 Daigo T 培地 (20%FCS) に交換し、翌日、2 日後、3 日後に軸索輸送を観察した。

対照軸索では、明瞭な輪郭を持つ比較的安定した計測の可能な速い小胞は逆行性輸送で、輸送速度は $3 \pm 0.5 \mu$ m/sec 程度であった。これに対し、計測可能であった速い順行性小胞の輸送速度は $4 \pm 0.5 \mu$ m/sec 程度であった。また、clioquinol 存在下での輸送速度は 20 μ M まで比較的保たれた。

E. 結論

clioquinol 濃度が 1-20 μ M の範囲で軸索輸送速度はほぼ一定に保たれることが解った。20 μ M での軸索障害が明らかであることから、clioquinol の毒性は輸送速度に直接働きかける機構ではないことが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

Toyoshima I. Titration of clioquinol toxicity on culture cells. J Akita Natl Hosp. 4(3): 9-15, 2016

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 文献

なし

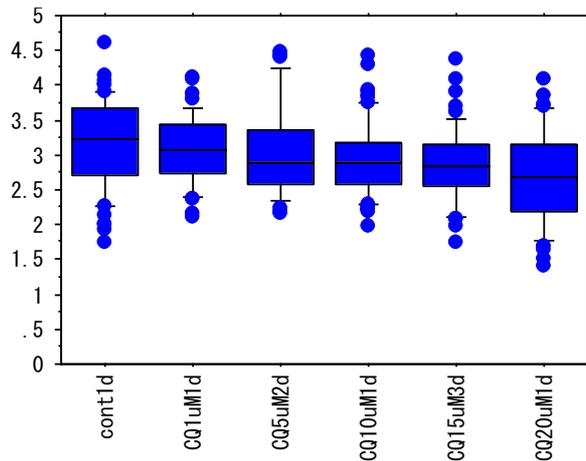


図1 clioquinol 濃度の逆行性軸索輸送速度に対する影響
箱ひげ図；バーの範囲は標準偏差。縦軸は輸送速度； $\mu\text{m}/\text{sec}$ 。

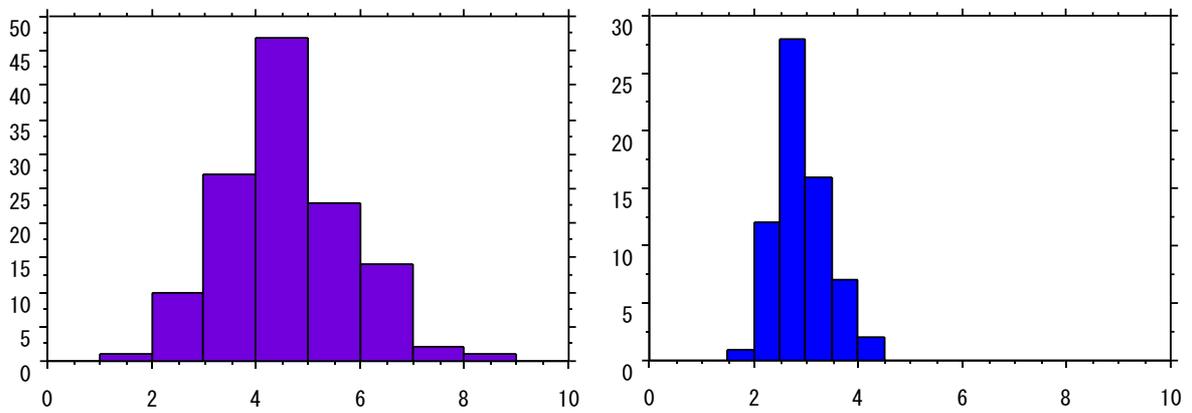


図2 順行性輸送（左）と逆行性輸送（右）のヒストグラム
 $10\mu\text{M}$ clioquinol 存在下での観察。横軸は輸送速度； $\mu\text{m}/\text{sec}$ 。