

Clioquinol の神経細胞に対する傷害作用 (4)

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

昨年に引き続き、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。デジタル微分干渉顕微鏡 / ビデオ増強法により、clioquinol の 1-20 μ M で、速い軸索輸送を順行性と逆行性に分けて観察した。その結果、clioquinol 濃度軸索輸送速度はほぼ一定に保たれること、逆行性では 15 μ M で速度増加が見られるが順行性ではこの増加は見られないこと、20 μ M では速度の減少、輸送の消失が見られることが示された。神経細胞における clioquinol の細胞傷害は、一般体細胞、腫瘍細胞の細胞傷害濃度である 20 μ M と同様であることが明らかとなった。

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、速い軸索輸送を順行性と逆行性に分けて観察し細胞傷害濃度について検討した。

B. 研究方法

受精鶏卵 14 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 24x40mm と大きくした。初日の培養は血清不含の GIT 培地、その後は呈色色素不含の 20% 血清加 DaigoT 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 倍レンズを装着し、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、24 時間後に軸索輸送を観察した。

対照軸索での速い逆行性輸送は、明瞭な輪郭を持つ小胞で $3.16 \pm 0.63 \mu\text{m}/\text{sec}$ であった。これに対し速い順行性小胞の輸送速度は $4.64 \pm 1.34 \mu\text{m}/\text{sec}$ で、有意に速い速度を示した。clioquinol 存在下では、輸送速度は比較的保たれ、逆行性では 15 μ M で上昇、20 μ M で有意の低下を示した。順行性では 15 μ M clioquinol での上昇は示さず、20 μ M では計測可能な小胞輸送は見られなかった。

E. 結論

ニワトリ後根神経節の初代培養神経細胞では、20 μ M clioquinol 存在下で、速い軸索小胞輸送は順行性と逆行性ともに消失ないし速度低下を生じ、一般体細胞、腫瘍細胞の細胞傷害濃度とに差は見られなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

Toyoshima I. Toxic effect of Clioquinol on ve-

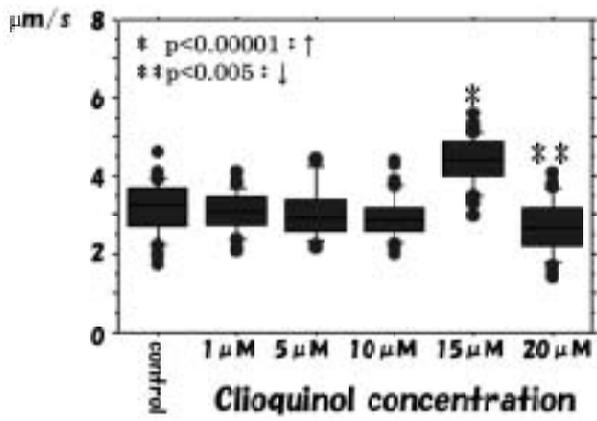


図1 clioquinol 濃度の逆行性軸索輸送速度に対する影響
箱ひげ図；縦軸は輸送速度；μ m/sec

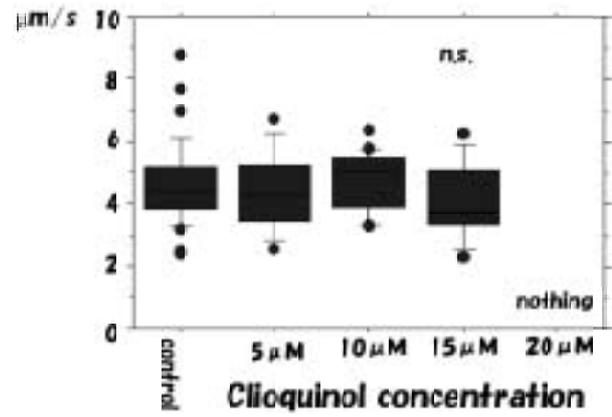


図2 clioquinol 濃度の順行性軸索輸送速度に対する影響
箱ひげ図；縦軸は輸送速度；μ m/sec

sicular transport in axons of dorsal root ganglion cells. J Akita National Hospital, 5 (1): 19-23, 2017

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

I. 文献
なし