

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007-2008

課題番号：19590234

研究課題名（和文） 脳血管障害による発熱の分子・細胞メカニズムの解明

研究課題名（英文） Molecular and cellular mechanisms of fever in brain stroke

研究代表者

松村 潔 (MATSUMURA KIYOSHI)

大阪工業大学・情報科学部・教授

研究者番号：10157349

研究成果の概要：

脳出血による発熱の動物モデルを作成し、発熱が起こるしくみを解析した。以下のことが明らかとなった。脳出血による発熱は原因物質（プロスタグランジン E2）が脳内で増加することで引き起こされる。これはウイルス感染による発熱の原因物質と同じである。プロスタグランジン E2 が脳内で増えるしくみは、脳出血の早期と後期で異なる。この研究を発展させると、発熱を伴う脳出血の効果的な治療につながると期待される。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：脳出血、発熱、プロスタグランジン、視索前野、シクロオキシゲナーゼ

## 1. 研究開始当初の背景

脳血管障害すなわち脳梗塞や脳出血にはしばしば発熱が伴う。そしてこの発熱が脳病態をさらに悪化させる可能性が指摘されている。しかし脳血管障害による発熱の機構についてはほとんど実験的な解析がなされていない。

そのメカニズムについては従来から漠然と『脳血管障害による発熱は体温調節中枢の機能不全が原因である』と考えられてきた。これは視床下部付近に病巣があると発熱が強いという臨床的な経験から導かれた説で、実験的な証拠にもとづくものではなかった。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では以下の仮説をたてた。  
仮説：脳血管障害時には非感染性に脳内でプロスタグランジン E2(PGE2)合成系が活性化され、PGE2 が視床下部機能を変化させて発熱が起こる。

本研究の目的は上記仮説を検証し、PGE2 合成に関わる分子と細胞を明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

## (1) ラット脳出血モデル

ウィスター系雄ラットをフォーレンで麻酔し、脳定位固定装置に固定した。左視索前野

(POA)にコラゲナーゼ(タイプ、50unit/ml)を 1.4 $\mu$ l、7 分間かけて投与した。対象実験として同量の生理食塩水、または煮沸処理して不活性化したコラゲナーゼを投与した。

(2) 体温測定

コラゲナーゼ投与 1 週間前までに、ラットの腹腔内に体温測定用テレメータを留置した。

(3) サンプル採取と分析

コラゲナーゼ投与 4 時間後あるいは 20 時間後にラットをネンプターで麻酔し、脳脊髄液を採取した。その後、左心室からインドメタシン含有 HEPES 緩衝生理食塩水を灌流した。脳を摘出し脳底部の出血を撮影し、凍結した。脳脊髄液と脳組織の一部で PGE2 を測定した。脳の一部は、cyclooxygenase-2 (COX-2)の免疫組織を施した。

4. 研究成果

(1) コラゲナーゼによる脳出血

コラゲナーゼの POA 投与により再現性よく出血が起こった(図 1)。

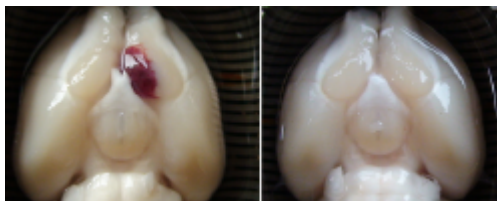


図 1 コラゲナーゼ投与による脳出血  
左はコラゲナーゼ投与、右は生理食塩水投与

(2) 体温変化

コラゲナーゼ投与によって、ラットの体温(腹腔内温度)は上昇した(図 2 ピンク線)。投与後 6 時間と 20 時間に体温のピークがあった。

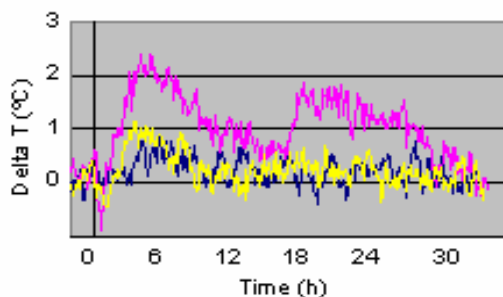


図 2 コラゲナーゼ投与後の体温  
時間 0 でコラゲナーゼを投与した。横軸の単位は時間、縦軸は前日同時刻の体温との差分  
ピンク線はコラゲナーゼ、青線は生理食塩水、黄線は煮沸したコラゲナーゼを投与した群の体温

生理食塩水や煮沸処理したコラゲナーゼの

投与では出血も体温上昇も起こらなかった。

POA ではなく、線条体にコラゲナーゼを投与した場合、線条体に出血は起こったが、体温上昇は全く起こらなかった。

(3) 解熱剤の効果

ジクロフェナック(非選択的 COX 阻害剤)を時点 0h で投与すると、コラゲナーゼによる初期の体温上昇はほぼ完全に抑制された(図 3)。しかし後期の体温上昇は起こった。

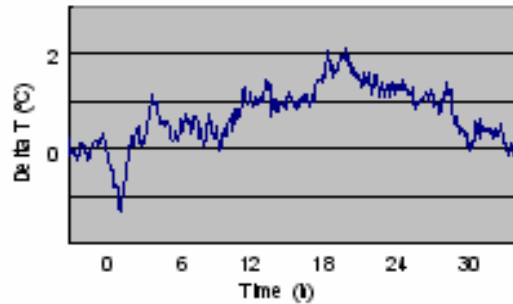


図 3 コラゲナーゼによる体温上昇が時点 0h ( ) のジクロフェナック投与で抑制された。

ジクロフェナックをコラゲナーゼ後 23h から 24h 後に投与すると、上昇していた体温は速やかに低下した(図 4)。

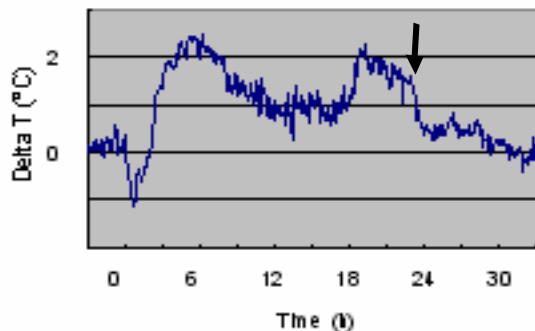


図 4 コラゲナーゼによる体温上昇が時点 23h - 24h ( ) のジクロフェナック投与で抑制された。

COX-2 選択的阻害剤(NS398)は時刻 0h で投与した場合、体温上昇を抑制しなかった。一方、時刻 20h で投与すると、体温上昇が抑制された。

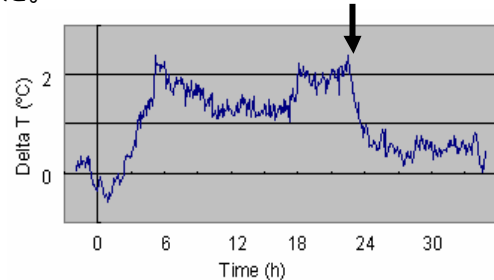


図 5 コラゲナーゼによる体温上昇が時点

23h - 24h ( ) の NS398 投与で抑制された。  
 ( 4 ) 脳内 PGE2 量  
 コラゲナーゼ投与 4 時間後、脳脊髄液中の PGE2 濃度は生理食塩水投与後より有意に高値であった ( 図 6 )

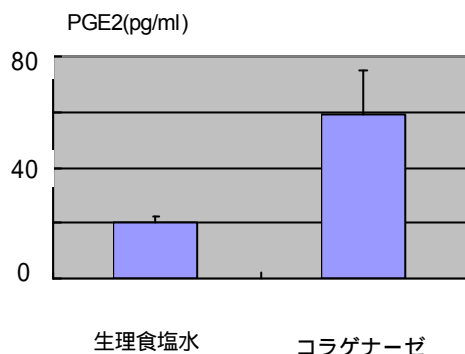


図 6 コラゲナーゼ投与 4 時間後の脳脊髄液中 PGE2 濃度

コラゲナーゼ投与 4 時間後、POA 組織中の PGE2 量はコラゲナーゼ投与側で有意に高値であった ( 図 7 )

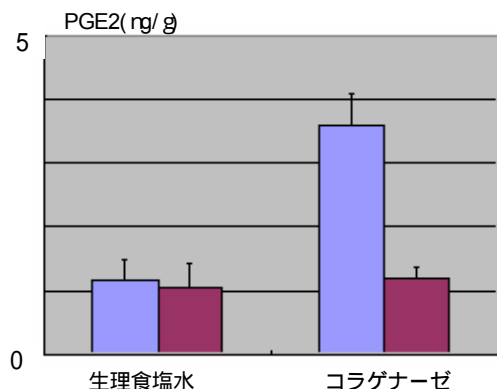


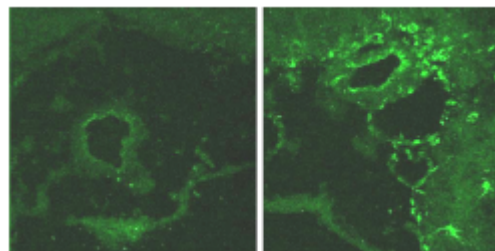
図 7 コラゲナーゼ投与 4 時間後の POA 組織中の PGE2 量 ( 青棒は左側、紫棒は右側の POA からのサンプル )

NS398 をコラゲナーゼと同時に投与した場合、脳脊髄液中の PGE2 は低下した。一方、NS398 は POA 組織中の PGE2 には影響しなかった。

NS398 をコラゲナーゼ投与 20 時間後に投与した場合、脳脊髄液中の PGE2 と、POA 組織中の PGE2 は共に低下した。

#### ( 5 ) 脳組織における COX-2 発現

コラゲナーゼ投与 4 時間後、24 時間後ともに脳組織で COX-2 の発現が認められた。出血領域の周辺組織の血管と、脳底部のクモ膜下腔の血管が主な発現部位であった ( 図 8 )。Von Willebrandt 因子による 2 重染色により、血管における COX-2 発現細胞は内皮細胞であることが明らかとなった。



生理食塩水      コラゲナーゼ

図 8 コラゲナーゼ投与 24 時間後の COX-2 陽性細胞。

#### ( 6 ) 考察

以上の結果は本研究の仮説を支持する。すなわち、脳血管障害時には非感染性に脳内でプロスタグランジン E2 (PGE2) 合成系が活性化され、PGE2 が視床下部機能を変化させて発熱が起こる。

COX 阻害剤を用いた実験から、脳出血時の発熱に関わる PGE2 合成のしくみが明らかとなった。つまり、早期 ( 4 時間 ) には COX-1 が、後期 ( 20 時間 ) には COX-2 が主要な働きをしている。

一方、COX-2 の発現は 4 時間と 20 時間で共に観察された。そして脳脊髄液中の PGE2 濃度は両方の時点で COX-2 阻害剤により低下した。しかし、4 時間目の脳組織中の PGE2 は COX-2 阻害剤で低下しなかった。

以上の一見背反する結果から考えられることは次のとおりである。早期の発熱の直接の原因は脳組織中の PGE2 である。それは COX-1 によって合成される。早期に COX-2 も発現しているが、COX-2 の脳組織の PGE2 量と発熱への寄与はすくない。

COX-2 を発現する細胞は脳血管内皮細胞であった。これは感染や炎症による発熱の場合と同じである。

COX-1 発現細胞については、今回検討していない。COX-1 は量の多少はあるが、様々な細胞に発現していると考えられる。私の以前の研究では、少なくともミクログリア、血管内皮細胞で構成的な発現を確認している。また血小板にも含まれていることは良く知られている。早期の PGE2 合成の細胞メカニズムについては今後の検討を要する。

脳出血がどのような仕組みで COX-2 を誘導するか、についても今後の主要な課題である。

5 . 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[ 雑誌論文 ] (計 7 件)

Matsumura S, Shibakusa T, Fujikawa T, Yamada H, Matsumura K, Inoue K, Fushiki T. Intracisternal administration of transforming growth factor-beta evokes fever through the induction of cyclooxygenase-2 in brain endothelial cells. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008, 294, R266-75, 査読あり

Sawada Y, Hosokawa H, Matsumura K, Kobayashi S. Activation of transient receptor potential ankyrin 1 by hydrogen peroxide. *Eur J Neurosci*. 2008, 27, 1131-42, 査読あり

松村 潔 疲労神経回路と扁桃体.  
*Clinical Neuroscience*. 2008, 26, 416-418, 査読なし

Tajino K, Matsumura K, Kosada K, Shibakusa T, Inoue K, Fushiki T, Hosokawa H, Kobayashi S. Application of menthol to the skin of whole trunk in mice induces autonomic and behavioral heat-gain responses. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007, 293, R2128-35, 査読あり

Sawada Y, Hosokawa H, Hori A, Matsumura K, Kobayashi S. Cold sensitivity of recombinant TRPA1 channels. *Brain Res*. 2007, 1160, 39-46, 査読あり

Takemiya T, Matsumura K, Yamagata K. Roles of prostaglandin synthesis in excitotoxic brain diseases. *Neurochem Int*. 2007, 51, 112-20, 査読あり

Oka Y, Ibuki T, Matsumura K, Namba M, Yamazaki Y, Poole S, Tanaka Y, Kobayashi S. Interleukin-6 is a candidate molecule that transmits inflammatory information to the CNS. *Neuroscience*. 2007, 145, 530-8, 査読あり

[ 学会発表 ] (計 3 件)

松村 潔 Imaging of lactate utilization in the brain in vitro and in vivo, International Conference on Fatigue Science 2008, 2008 年 9 月 4 日, 沖縄県名護市

松村 潔 疲労と発熱の神経・免疫機構, 日本生理学会大会, 2008 年 3 月 25 日, 東京都新宿区

松村 潔 リン酸化 NF-kB は 1 次および高次感覚ニューロンの活動マーカーとして利用できる. *Neuro2007*, 2007 年 9 月 11 日, 神奈川県横浜市

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

松村 潔 (MATSUMURA KIYOSHI)  
大阪工業大学・情報科学部・教授

研究者番号: 10157349

(2) 研究分担者

小林 茂夫 (KOBAYASHI SHIGEO)  
京都大学・大学院情報学研究所・教授

研究者番号: 40124797

細川 浩 (HOSOKAWA HIROSHI)  
京都大学・大学院情報学研究所・講師

研究者番号: 90359779

(3) 連携研究者

なし