

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591008

研究課題名(和文)局所脳虚血後の梗塞巣拡大における ERK シグナル伝達経路の関与の検討

研究課題名(英文) Investigation of involvement of ERK signal transduction pathway in the development of infarct size after focal cerebral ischemia

研究代表者

富田 裕 (TOMITA YUTAKA)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：60276251

研究成果の概要：ERK2 ノックアウト・マウス群では、野生型コントロール群と比較し、脳梗塞後の関心領域の脳微小血流および毛細血管内赤血球速度の回復過程が時間的に速い傾向が認められた。また、TTC 染色を用いて脳梗塞 24 時間後の梗塞体積を 2 群間で比較したところ、ERK2 ノックアウト・マウス群の方が若干小さくなる傾向が認められた。一方、MRI を用いた検討では、その梗塞体積に有意差は認められなかった。局所脳虚血後の梗塞病変の進展拡大において ERK2 シグナル伝達機構が増悪因子として作用しており、将来の脳梗塞後の治療のターゲットとなり得る可能性があることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：(1) ERK2 ノックアウト・マウス (2) 中大脳動脈閉塞モデル (3) FITC ラベル赤血球 (4) 共焦点顕微鏡 (5) マットラブソフト (6) TTC 染色 (7) 7 テスラ動物用 MRI

## 1. 研究開始当初の背景

脳虚血後の治療のターゲットとして MAP kinase ファミリーが注目されているが、その脳障害における関与はいまだ不明である。神経細胞に加わる刺激の種類や強度によって ERK の多様な反応性が見られるため、いまだに脳虚血後の神経細胞死と ERK 活性化の関係については明瞭な答えが示されていない。

## 2. 研究の目的

Laser scanning confocal 蛍光顕微鏡を用い、マウス頭窓を通して in vivo ビデオモニターする方法をにより、MEK1/ERK 伝達経路の局所脳虚血後の梗塞巣の拡大への関与につき明らかにすることを目的とした。

### 3 . 研究の方法

ERK2 ノックアウト・マウス、および野生型 littermate コントロールに対し、中大脳動脈閉塞モデルを作成、その微小循環動態を同一動物、同一部位にて confocal 顕微鏡を用いて長期間反復 in vivo 観察し、また MRI を用いて頭部撮影し梗塞部位を描出、梗塞体積を検討し、組織学的検索結果と比較する。

### 4 . 研究成果

今後のさらなる検討を要するが、これまでの結果からは局所脳虚血後の梗塞病変の進展拡大において ERK2 シグナル伝達機構が増悪因子として作用しており、将来の脳梗塞後の治療のターゲットとなり得る可能性があることが示唆された。

### 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5件)

Tomita M. Automated method for tracking vast numbers of FITC-labeled RBCs in microvessels of rat brain in vivo using a high-speed confocal microscope system. *Microcirculation*. 15; 2008: 163-174.

Unekawa M. Frequency distribution function of RBC velocities in single capillaries of the rat cerebral cortex using intravital confocal microscope with high-speed camera. *Asian Biomed*. 2; 2008: 203-218.

Tomita M. Periodic disappearance of RBC from focal capillary network during k+-induced cortical spreading depression in rodents. *J Vasc Res*. 45; 2008: 49.

Tomita M. Cell swelling - membrane depolarization - loss of osmotic gradient layer in the cell membrane and changes in light scattering of red blood cells. *Neuroscience Research*. 61;

2008: S65.

Tomita Y. Effect of artificial RBCs on murine hemorrhagic shock model. *Artificial Blood*. 107; 2008: 16.

[学会発表](計20件)

伊藤義彰: 大脳皮質動脈において血管内皮障害後の修復過程で認められた移植単核球の効果. 第34回日本脳卒中学会総会 2009.3.22 島根

富田稔: 脳虚血周辺部微小血管の血管新生-経時的形態的变化と赤血球流速よりみたアプローチ. 第34回日本脳卒中学会総会 2009.3.20 島根

畝川美悠紀: Frequency distribution function of red blood cell velocities in intraparenchymal single capillaries of the mouse cerebral cortex. 第34回日本微小循環学会年次総会 2009.2.20 東京

鳥海春樹: マウス板間静脈の血流特異性と週齢に伴う構造変化の検討. 第20回日本脳循環代謝学会総会 2008.11.7 東京

富田裕: マウス脱血出血性ショック時の人工赤血球投与による脳酸素分圧への影響. 第20回日本脳循環代謝学会総会 2008.11.7 東京

Tatarishvili Jemal: Time for remodeling of the micro vascular structure after MCA occlusion in mice. 第20回日本脳循環代謝学会総会 2008.11.7 東京

畝川美悠紀: 一酸化窒素の急速静注血圧下

降に対する脳血流（血液希釈法）と脳組織毛細血管内赤血球速度の変化. 第 20 回日本脳循環代謝学会総会 2008.11.6 東京

富田稔 RBC exclusion from capillaries in  $K^{+}$ -induced cortical spreading depression and MCA occlusion-induced ischemia in rodents. Asian Congress for Microcirculation 2008.10.27. Tai an, China

富田稔 High RBC velocities in single capillaries of the rat cerebral cortex. Asian Congress for Microcirculation. 2008.10.27. Tai an, China

富田裕 Effect of artificial RBCs on murine hemorrhagic shock model. The 6th Current Issues on Blood Substitute Research. 2008.10.24 東京

富田裕 Effects of artificial RBCS on murine cerebral ischemia. 10th International Symposium on Thrombolysis and Acute Stroke thrapy 2008.9.22 Budapest

富田裕 In vivo visualization of astrocytic elements surrounding microvessels with flowing FITC-labelled RBCs in mice. 6th World Stroke Congress. 2008.9.25 Wien

富田稔 Periodic disappearance of RBC from focal capillary network during  $K^{+}$ -induced cortical spreading depression in rodents. 25th European Conference of Microcirculation. 2008.8.26 Budapest.

富田稔 Facilitation of FITC-labeled RBC

movement along single capillaries: role of glia? Gordon Conference, Brain Energy Metabolism and Blood Flow. 2008.8.17 Andover, NH

富田裕: The comparison of the fate of bone marrow cells (BMCs) and adipose tissue-derived adult stromal cells (ADSCs) transplanted into the ischemic C57BL/6 adult mice brain.

第 31 回日本神経科学大会 2008.7.10 東京

富田稔: Cell swelling - membrane depolarization - loss of osmotic gradient layer in the cell membrane and changes in light scattering of red blood cells.

第 31 回日本神経科学大会 2008.7.10 東京

富田裕 磁力によるマウス脳血管内への選択的な物質移送の検討. 慶應ニューロサイエンス研究会 2008.6.14 東京

鳥海春樹: マウス板間静脈の経週齡的発達と消退 頭痛との関連について 第 49 回日本神経学会総会 2008.5.17 横浜

富田裕: マウス脳血管内への選択的な物質移送の検討. 第 49 回日本神経学会総会 2008.5.17 横浜

富田裕 Repeated in vivo imaging with cellular resolution of bone marrow cells transplanted into the ischemic brain of a mouse. 21st Century Center of Excellence (COE) Program International symposium 2007 Basic Study and Clinical Application of the Human Stem Cell Biology and Immunology 2007.11.29 東京

{ 図書 } ( 計 0 件 )

〔産業財産権〕  
出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

〔その他〕  
なし

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

富田 裕 (TOMITA YUTAKA)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号：60276251

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

長田 高志 (OSADA TAKASHI)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号：30348635