

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年3月31日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23790991

研究課題名（和文）ゼラチン多孔体による新規慢性期脳梗塞再生治療

研究課題名（英文）A novel regeneration therapy of the chronic stage cerebral ischemia with porous gelatin scaffold

研究代表者

出口 健太郎 (DEGUCHI KENTARO)

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：80467753

研究成果の概要(和文): 脳梗塞慢性期の再生治療で重要である軸索伸長関連因子についてラット脳梗塞モデルにおいて検索した。軸索伸長阻害因子である neurocan、semaphoring 3A、Nogo receptor と、促進因子である deleted in colorectal cancer はいずれもフリーラジカルスカベンジャーである edaravone 投与により、その発現増強を認め、これらの因子は梗塞後組織修復への関与が示唆された。

研究成果の概要(英文): Changes in expression of neurorepair and neuroregenerative factors, which were important for the regeneration therapy of the chronic stage cerebral ischemia, were examined after transient rat cerebral ischemia. Immunohistochemistry and western blot analyses indicated that axonal growth inhibiting protein expression of neurocan, Sema3A, Nogo-R, and promoting protein expression of deleted in colorectal cancer was increased with edaravone, which was one of the free radical scavenger. The present study demonstrates that these protein factors ameliorated such damage in brain repair after ischemia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,000,000	600,000	2,600,000

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：慢性期脳梗塞 再生治療 軸索伸長関連因子

1. 研究開始当初の背景

近年、成人脳においても、種々の障害の後に神経細胞の再生が生じていることが分かってきた。このことは脳梗塞をはじめとする種々の神経疾患の治療に途を開くものとして注目を集めている。しかし脳梗塞や脳挫傷などで脳に大きな障害が加わると、その領域の脳細胞はほぼすべてが壊死に陥り、後には cyst が生じてしまう。ヒト脳梗塞が一旦生じ

ると、たとえ神経細胞が近隣領域で再生したとしても障害領域には到達せず、結果的には障害組織の機能回復は期待できないこととなる。そこで、脳組織を新生させることができる可能性がないのかという発想に至った。

2. 研究の目的

脳梗塞では、その病巣部で多くの細胞が壊死に陥り、非可逆的な機能障害を残す。慢性

期脳梗塞再生治療には、組織再構築の見地からの検討が求められる。この研究では、脳梗塞による損傷部位に、ゼラチンで作成した多孔体を組織を支える足場担体として提供し、さらに適切な栄養因子、組織を構築する細胞を付加することで、どのような再生効果が起こるかを明らかにする。

3. 研究の方法

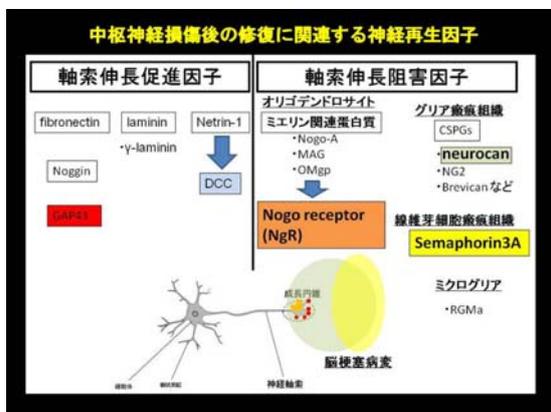
当初、ゼラチン多孔体で脳組織再生を試みたが、周囲に軸索伸長阻害因子が多く存在し、再生を困難にさせていると考えられたため、脳梗塞発症後に軸索伸長関連因子がどのように発現しているのか確認した。

(1) ラット中大脳動脈閉塞モデルの血栓溶解薬である tPA、フリーラジカルスカベンジャーである edaravone の投与によるラット梗塞巣体積の変化を HE 染色を用いて測定した。

(2) 梗塞後脳における軸索伸長阻害因子(コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの一つである neurocan、線維芽細胞癒痕組織由来の semaphorin type 3A (Sema3A)、ミエリン関連蛋白質の受容体の一つである nogo receptor (Nogo-R)) を、2 重免疫染色ならびにウエスタンブロット法で検討した。

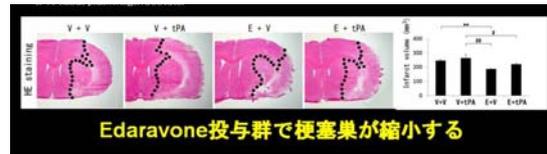
(3) 梗塞後脳における軸索伸長促進因子 (netrin の受容体である deleted in colorectal cancer (DCC) を、2 重免疫染色ならびにウエスタンブロット法で検討した。

(4) 慢性期脳梗塞患者においては、脳組織の障害により、認知機能も低下している。当院脳卒中外来患者の認知機能について検討し、さらに他の疾患についても検討した。

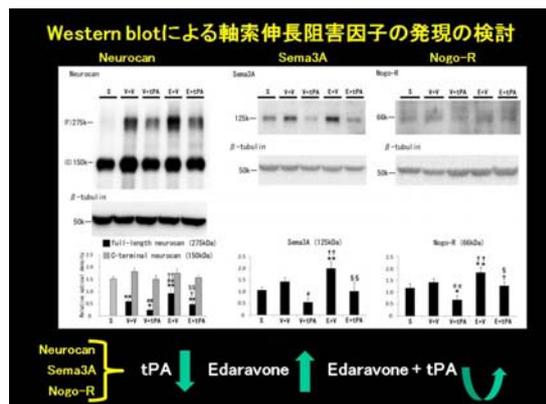
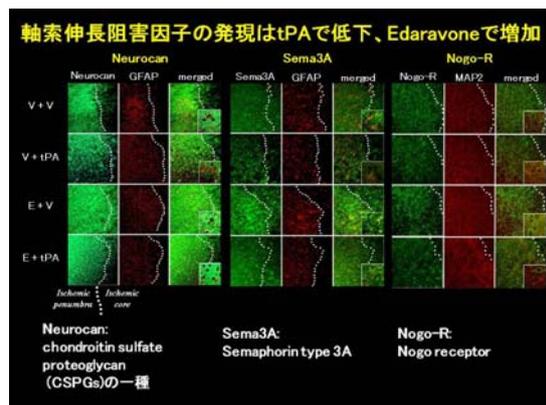


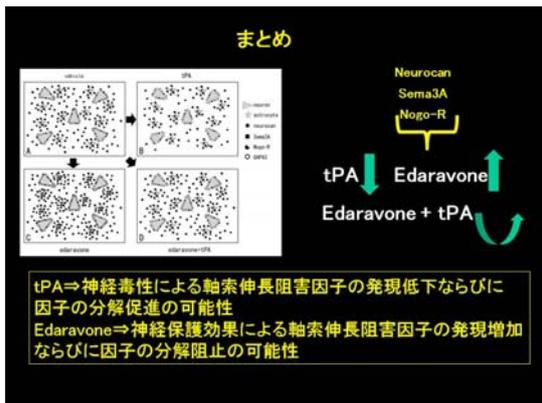
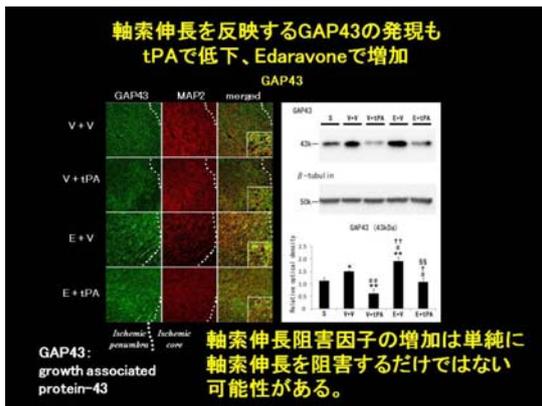
4. 研究成果

(1) 脳梗塞体積はedaravone投与により縮小した。



(2) 脳梗塞急性期において、軸索伸長の阻害作用があるとされる因子ならびに促進作用があるとされる因子のいずれもがtPA投与により発現低下し、edaravone投与により発現増強していた。tPAは、その神経毒性による軸索伸長関連因子の発現低下ならびに各種因子の分解促進の関与が考えられた。また、edaravoneは、その神経保護効果による軸索伸長関連因子の発現増加ならびに因子の分解阻止の関与が考えられた。

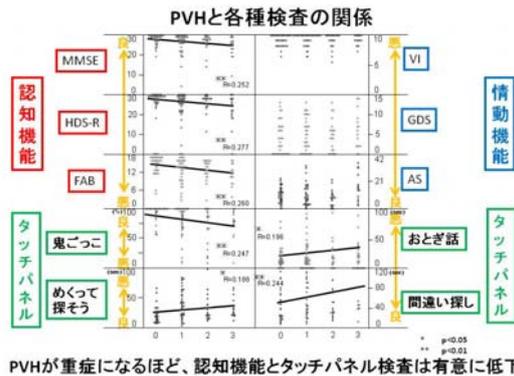
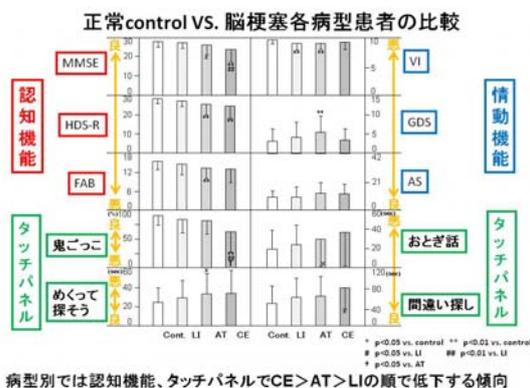




(3) 慢性期脳梗塞の患者では、ラクナ梗塞<アテローム血栓性脳梗塞<心原性脳塞栓症の順で、また白質病変が多いほど認知機能が低下しており、脳組織障害のダメージと認知機能低下は比例していると考えられた。

患者背景

	Control	LI(ラクナ)	AT(アテローム血栓性)	CE(心原性脳塞栓症)
人数	105	76	53	13
男/女	60/45	50/26	32/21	8/5
発症年齢	(-)	68.0 ± 10.8	66.2 ± 11.7	67.0 ± 10.6
検査年齢	71.3 ± 10.3	73.4 ± 8.9	70.9 ± 10.2	73.0 ± 7.2
CDR	0	0.08 ± 0.22	0.09 ± 0.24	0.41 ± 0.80
基礎疾患				
高血圧	44	52	31	7
脂質異常症	17	27	16	3
糖尿病	10	17	20	3
喫煙歴有	17	10	13	5



(4) 近年、脊髄損傷などでは、軸索伸長阻害因子の発現を抑制することにより、機能回復がより期待できることが報告されているが、本実験において、少なくとも脳梗塞急性期においては、軸索伸長促進因子だけでなく、阻害因子の発現増強も脳保護的に関与する可能性が示唆された。ゼラチン多孔体による慢性期脳梗塞再生医療を行う上で、各種因子の発現のコントロールのタイミングをさらに検討する必要があると考えられた。また、脳組織新生が得られたとして、認知機能などの機能回復が得られるのか確認することも重要な課題である。

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5件)

- ① Deguchi K, Kono S, Deguchi S, Morimoto N, Kurata T, Ikeda Y, Abe K. A novel useful tool of computerized touch panel-type screening test for evaluating cognitive function of chronic ischemic stroke patients. J Stroke Cerebrovasc Dis. 査読有、2013 Epub ahead of print
- ② Deguchi K, Miyazaki K, Abe K. et al. Modifying neurorepair and neuroregenerative factors with tpa and edaravone after transient middle

cerebral artery occlusion in rat brain.
Brain Res. 査読有, Vol. 1436、2012、
pp. 168-177

〔学会発表〕（計 11 件）

- ① 出口健太郎、タッチパネル式コンピューターを活用した脳梗塞既往患者の認知機能と画像所見の関連、第 21 回日本脳ドック学会総会、2012 年 6 月 15 日、広島
- ② 出口健太郎、ラット脳梗塞のedaravone 投与による神経再生因子の発現増強効果、第 37 回日本脳卒中学会総会、2012 年 4 月 26 日、福岡

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.okayama-u.ac.jp/user/med/shinkeinaika/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

出口 健太郎 (DEGUCHI KENTARO)

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：80467753

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし