

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659651

研究課題名(和文) 神経疾患の病態解析に有用な新たな *in vivo* 分子イメージング法の確立

研究課題名(英文) *In vivo* optical imaging methods evaluating neurological diseases

研究代表者

阿部 康二 (Abe, Koji)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：20212540

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：脳梗塞増悪の重要な因子の一つであるMMPの活性を画像化することを目指し、MMPsense680と呼ばれるMMPで分解されると蛍光を発生する特殊な色素を中大脳動脈脳梗塞マウスモデルに投与し、マウス個体の外表面から蛍光を検出できる実体蛍光顕微鏡を用いて脳梗塞発生後の状態を経時的に観察した。その結果このMMPイメージングはMMPs活性化を動物が生きたまま *in vivo* で検出することができ、脳梗塞による障害を評価する新規のイメージング方法として大変有用であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Matrix metalloproteinase *in vivo* optical imaging technique could provide a novel non-invasive and real-time detection method for acute ischemic injury, especially when tPA and free radical scavenger are used after a stroke.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード： *In vivo* イメージング 脳梗塞 マトリックスメタロプロテアーゼ 血栓溶解療法 出血性脳梗塞

1. 研究開始当初の背景

2005年10月より日本でも脳梗塞急性期におけるtissue plasminogen activator (tPA)静注による血栓溶解療法が行われるようになり、一定の効果が報告されてきている。しかしながら一定の割合で重篤な合併症である出血性脳梗塞がおこることから、その適応は厳しく制限されている。近年の研究で出血性脳梗塞発生にはマトリックスプロテアーゼ (MMP) が深く関与していることが示され、注目されてきており、その評価方法の開発が臨床現場でも求められている。

その一方、光イメージング技術の発展により蛍光標識をつけたプローブを生体内のターゲット分子や細胞・臓器に集積させ、生体内での特定の蛋白の発現やプローブの動態を体外から空間的・時間的に測定することが可能となった。特に生体透過性が高く、かつ動物がもつ自家蛍光が少ない近赤外領域(700～900nm)の蛍光プローブを用いることで、これまで困難とされていた深部組織の観察も可能となってきた。

2. 研究の目的

そこで我々は脳梗塞におけるマトリックスプロテアーゼ (MMP) 活性を画像化することを旨とし、MMPsense680と呼ばれるMMPで分解されると蛍光を発する特殊な色素をマウス脳梗塞モデルに投与し、マウス脳表面から蛍光を検出できる実体蛍光顕微鏡を用いて、経時的に観察を行った。

3. 研究の方法

マウス中大脳動脈60分間閉塞モデルを作成し、偽手術群、Vehicle群、再還流直後に血栓

溶解薬であるtPA (10mg/kg) を経静脈投与したtPA群、フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボン(3mg/kg)を投与したEDA群、tPAとエダラボンを投与したtPA/EDA群、tPAと骨髄間葉系幹細胞 (MSCs) を投与したtPA/BMSC群の計6群で検討を行った。評価項目として、再還流48時間後にMMPsense680投与によるin vivo イメージング、TTC染色による脳梗塞体積評価、ゼラチンザイモグラフィーによるMMP活性測定を行った。

4. 研究成果

実験の結果、脳梗塞体積はVehicle群が最大で、tPA, tPA/BMSC, tPA/EDA, EDA群の順で縮小した。MMPsense680 in vivo イメージングでは、tPA群最も強いシグナルを認め、tPA/BMSC, tPA/EDA, EDA群の順でそのシグナルは減弱した。ゼラチンザイモグラフィーでは、tPA群でMMP活性を最も強く認め、やはりtPA/BMSC, tPA/EDA, EDA群の順でそのシグナルは減弱した。

この結果から、MMP in vivo イメージングは脳梗塞脳内でおこる障害を評価する新規イメージング方法として、大変有用であることが明らかになった。今後臨床応用にむけて更なる研究開発を行っていく必要がある。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 9 件)

1) Kono S, Deguchi K, and Abe K Reducing hemorrhagic complication by dabigatran via neurovascular protection after recanalization with tissue plasminogen activator in ischemic stroke of rat. *J Neurosci Res.* 92 (2014) 46-53, doi: 10.1002/jnr.23302. 査読あり

2) Tian F, Yamashita T, Deguchi K, Omote Y, Kawai H, Ohta Y, Abe K In vivo optical imaging correlates with improvement of cerebral ischemia treated by intravenous bone marrow stromal cells

(BMSCs) and edaravone. *Neurol Res.* 35 (2013)1051-1058,doi:10.1179/1743132813Y.0000000252. 査読有り

3) Kawai H, Kurata T, and Abe K
Combination benefit of amlodipine plus atorvastatin treatment on carotid atherosclerosis in Zucker metabolic rats. *Neurol Res.* 35 (2013) 181-186, doi: 10.1007/s12975-012-0205-6. 査読あり

4) Kono S, Deguchi K, and Abe K
Tissue plasminogen activator thrombolytic therapy for acute ischemic stroke in 4 hospital groups in Japan. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 22 (2013) 190-196,doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2011.07.016. 査読あり

5) Kono S, Deguchi K, and Abe K
Intravenous thrombolysis with neuroprotective therapy by edaravone for ischemic stroke patients older than 80 years of age. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 22 (2013) 1175-1183, doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.02.010. 査読あり

6) Matsuzono K, Ikeda Y, Deguchi S, and Abe K
Cerebral embolic stroke after disappearing takotsubo cardiomyopathy. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 22 (2013) 682-683, doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.07.022. 査読有り

7) Matsuzono K, Yoshiki T, Ikeda Y, Abe K
Synchronized Babinski and Chaddock signs preceded the MRI findings in a case of repetitive transient ischemic attack. *Intern Med.* 52 (2013) 2127-2129, https://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/52/18/52_52.0190/_article, 査読あり

8) Sun M, Yamashita T, Shang J, Liu N, Deguchi K, Liu W, Ikeda Y, Feng J, and Abe K
Acceleration of TDP43 and FUS/TLS protein expressions in the preconditioned hippocampus following repeated transient ischemia. *J Neurosci Res.* 92 (2013) 54-63, doi: 10.1002/jnr.23301. 査読あり

9) Yokoyama S, Manabe Y, Fujii D, Ikeda-Sakai Y, Narai H, Omori N and Abe K
Intravenous Tissue Plasminogen Activator Therapy for an Acute Ischemic Stroke

Patient with Later Diagnosed Unilateral Moyamoya Syndrome.

J Stroke Cerebrovasc Dis. 22 (2013) 1190-1192, doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2012.06.011. 査読あり

〔学会発表〕(計 10件)

1) Omote Y, Deguchi K, Kurata T, Yamashita T, Ikeda Y, and Abe K
Clinical and Pathological Improvement in Stroke-Prone Spontaneous Hypertensive Rats Associated with Pleiotropic Effect of Cilostazol. 2013.11.15-16 International TIA/ACVS Conference (TIA2013) (Tokyo, Japan)

2) Omote Y, Kawai H, Deguchi K, Yamashita T, Kurata T, and Abe K
Synergistic benefit of combined amlodipine plus atorvastatin on neuronal damage after stroke in Zucker metabolic rat. 2013.11.15-16 International TIA/ACVS Conference (TIA2013) (Tokyo, Japan)

3) Sato K, Omote Y, Nakano Y, Takamiya M, Yamashita T, Kurata T, Deguchi K, and Abe K
A case of recurrent vasospasm of the cervical ICA. 2013.11.15-16 International TIA/ACVS Conference (TIA2013) (Tokyo, Japan)

4) Kono S, Deguchi K, Yamashita T, Manabe Y, Takao Y, Kashihara K, Inoue S, Kiriyama H, and Abe K
Neuroprotective Therapy by Edaravone with Intravenous tPA for Acute Ischemic Stroke in the Elderly Patients. 2013.10.5-6 The 6th Korea-Japan Joint Stroke Conference (Osaka, Japan)

5) Kono S, Deguchi K, Yamashita T, Manabe Y, Takao Y, Kashihara K, Inoue S, Kiriyama H, and Abe K
Intravenous Thrombolysis with Neuroprotective Therapy by Edaravone for Ischemic Stroke Patients Older than 80 Years of Age. 2013.8.30-9.1 Asia Pacific Stroke Conference 2013 (Hong Kong, China)

6) Sato K, Abe K
Prospective surveillance data of human prion disease in Chugoku and Shikoku region in Japan. 2013.6.26-27 The 20th IAGG World Congress of the International Association of Gerontology

and Geriatrics (Soeul, Korea)

7) Deguchi K, Liu N, Liu W, Omote Y, Kono S, Yunoki T, Deguchi S, Yamashita T, and Abe K
Modifying neurorepair and neuroregenerative factors with tPA and edaravone after transient middle cerebral artery occlusion in rat brain. 2013.5.20-23, Brain 2013 (Shanghai, China)

8) Yamashita T, Abeliovich A, and Abe K
Direct reprogramming from human fibroblasts to hiN cells; A novel method preparing cell resource for stroke therapy. 2013.5.20-23, Brain 2013 (Shanghai, China)

9) Kono S, Deguchi K, Morimoto N, Kurata T, Yamashita T, Manabe Y, Takao Y, Kashiwara K, and Abe K
tPA thrombolytic therapy for acute ischemic stroke in 4 hospital groups of Japan. 2013.5.20-23, Brain 2013 (Shanghai, China)

10) Omote Y, Deguchi K, Tian F, Kawai H, Kurata T, Yamashita T, Ohta Y, Abe K
Clinical and Pathological Improvement in Stroke-Prone Spontaneous Hypertensive Rats Related to Pleiotropic Effect of Cilostazol. 2013.2.6-8 Internationa Stroke Conference (Honolulu, Hawaii, USA)

〔図書〕(計2件)

1) Yamashita T, and Abe K
Edaravone therapy: From bench to bedside: Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders; Springer (2013), 154-163 .

2) Yamashita T, Miyazaki K, and Abe K
Cerebro-Spinal Blood Flow and its Regulation: Nuroanesthesia and Cerebro-Spinal Protection; Springer (2013), 29-35.

〔産業財産権〕
特になし

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
特になし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

阿部 康二 (ABE KOJI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：20212540

(2)研究分担者

池田 佳生 (IKEDA YOSHIO)

群馬大学・医学研究科・教授

研究者番号：00282400