

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462233

研究課題名(和文) 脳微小循環障害時のアストロサイトの役割

研究課題名(英文) Cerebral microcirculatory disturbance and astrocyte

研究代表者

石川 真実 (Ishikawa, Mami)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・客員研究員

研究者番号：60212859

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：くも膜下出血、脳出血、脳梗塞などの脳卒中、脳血管障害では、物理的圧迫による脳損傷を除くと、脳血流低下が生じてアストロサイトやニューロンが障害され、脳機能が低下する。くも膜下出血と同時に脳血流が低下し、アストロサイトやニューロンへの血流障害が発生する。その時、白血球の毛細血管内 plugging が関与しており、細動脈の自動調節も消失する。アストロサイトの突然のpH低下の関与と、脳循環自動調節能低下は、可逆性の反応であるが、くも膜下出血などで急激な強い障害が生じた場合には、回復の見込みは低い。アストロサイトの急激なCa濃度変化が、病態に関わり研究テーマとして継続している。

研究成果の概要(英文)：The cortical microcirculation was observed in vivo at the time of SAH induction at the skull base or cerebral ischemia induction, using a two-photon laser scanning microscopy with line-scan analysis. SAH caused sudden worsening of the cortical arteriolar velocity and flow at the onset. The neurovascular unit cannot function enough to maintain cortical microcirculatory flow in the super acute phase of SAH. Increased intracranial pressure after subarachnoid hemorrhage (SAH) causes extensive brain ischemia and results in worsening the clinical status. SAH caused sudden worsening of cortical microcirculation at the onset. The leukocyte plugging in capillaries is one of reasons why cortical microcirculation is aggravated after SAH. I first observed the cortical microcirculation in the super acute phase of SAH with a two-photon laser scanning microscopy and reported the cortical microcirculatory disturbance, autoregulatory dilatory response and the neurovascular dysfunction after SAH.

研究分野：脳微小循環

キーワード：くも膜下出血 脳虚血 アストロサイト Ca 白血球

1. 研究開始当初の背景

脳血流障害時に、脳梗塞にならないために脳血管が拡張する脳循環予備能がある。一定の脳循環予備能を維持するために脳で恒常的に産生される一酸化炭素(CO)が、一酸化窒素(NO)、硫化水素(H₂S)、Epoxyeicosatrienoic acid(EET)などの脳血管拡張物質を制御していることを検討してきた。足突起を出して脳血管を取り巻くアストロサイトの脳血管脳血流調節機構にも、このCOによる調節機構が関与しているものと考えられる。病状に応じてどの拡張物質が関与するか、臨床における各病態に対応させ、発症の機序から治療まで検討してゆくための研究として、2光子励起生体蛍光顕微鏡解析を導入することにより、脳表だけでなく脳実質の正確な脳循環調節機構の検討が期待されている。脳梗塞にならない程度の脳血流低下であるにもかかわらず、脳機能の障害として、高次脳機能障害がみられたり、逆に、脳虚血に対する血行再建術後に過灌流となって神経脱落症状がみられることもある。これらの脳血流障害における神経症状発症のメカニズムにも脳血流調節機構の関与が示唆されている。

2. 研究の目的

脳梗塞やくも膜下出血時の脳障害のメカニズムについて、脳実質内の脳虚血が関与しているが、脳表ではなく脳内の血流障害がどのように生じて、それを克服するためにどのようなメカニズムが存在するか？脳循環予備能は血管閉塞や出血による脳血流低下が生じた時に脳損傷が起こらないようにするための一つのメカニズムと考えられるが、脳循環予備能維持の機序と予備能が低下消失し血流障害が発生した時にどのような反応がみられるか。2光子励起生体蛍光顕微鏡を用いて Qdot 投与による脳内微小循環と GFAP-GFP マウスによる血管周囲アストロサイトを観察し、上記の現象のメカニズムを検討する。また、アストロサイトの細胞内 Ca²⁺濃度変化をとらえ、脳保護の分子メカニズムを追及する。分子メカニズム解明により、神経症状出現による後遺症を少しでも軽減することが研究の目的である。

3. 研究の方法

GFAP-GFP マウス、Heme oxygenase knockout mouse、Wild type マウスを用いて、全身麻酔下の手術で頭窓を作成し、頭頂部の脳を観察可能な状態にして気管切開や血圧管理の全身管理を行う。2光子生体蛍光顕微鏡システムを用いて、脳表から深さ100 μm 付近の precapillary arteriole までを観察し、正常マウスのアストロサイトの形態観察、蛍光色素の静脈投与により、細動脈・毛細血管・細静脈の血管径変化・血流速度・血管透過性を測定する。また、Fluo-4/AM の局所投与により、アストロサイトの細胞内 Ca²⁺濃

度変化を捉える。これらの観察を、中大脳動脈閉塞モデル、くも膜下出血モデル、血行再建術時の過灌流症候群モデルで行い、正常時と比較する。

4. 研究成果

くも膜下出血、脳出血、脳梗塞などの脳卒中、脳血管障害では、物理的圧迫による脳損傷を除くと、脳血管閉塞による脳血流低下や脳圧更新による脳血流低下が突然生じて、酸素やグルコースが低下することにより、アストロサイトやニューロンが障害され、脳機能が低下する。くも膜下出血と同時に脳血流が低下し、アストロサイトやニューロンへの血流障害が発生する。その時、白血球の毛細血管内での plugging が関与しており、plug した毛細血管の血漿血流やすべての血球血流を突然遮断する。脳表のみの観察では、はっきりした血管ない血流遮断としてとらえることはむずかしく、二光子蛍光顕微鏡を用いて、line scan による解析を行うことで、はじめてその明確に病態への関与があることを示した。また、脳虚血時に細動脈が拡張する細動脈の自動調節能も、虚血時にはいったん細動脈が拡張することが観察できることで、それに続く細動脈拡張反応の低下消失が自動調節能消失と明確に判定することが可能となった。アストロサイトの突然の pH 低下の関与と、脳循環自動調節能低下は、軽度の脳障害時には可逆性の反応であるが、くも膜下出血などで急激な強い障害が生じた場合には、回復の見込みは低いと考えられる。アストロサイトの急激な Ca 濃度変化が、こういった病態に関与するか、研究テーマとして継続してゆく。

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 4件)

- 1) Ishikawa M, Kajimura M, Morikawa T, Tsukada K, Tsuji T, Kusaka G, Tanaka Y, Suematsu M. Leukocyte plugging and cortical capillary flow after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)*. 158:1057-67, 2016.
- 2) Ishikawa M, Saito H, Yamaguro T, Ikoda M, Ebihara A, Kusaka G, Tanaka Y. Cognitive impairment and neurovascular function in patients with severe steno-occlusive disease of a main cerebral artery. *J Neurol Sci* 361:43-8, 2016.

- 3) Morikawa T, Kajimura M, Nakamura T, Hishiki T, Nakanishi T, Yukutake Y, Nagahata Y, Ishikawa M, Hattori K, Takenouchi T, Takahashi T, Ishii I, Matsubara K, Kabe Y, Uchiyama S, Nagata E, Gadalla MM, Snyder SH, Suematsu M. Hypoxic regulation of the cerebral microcirculation is mediated by a carbon monoxide-sensitive hydrogen sulfide pathway. PNAS 109:1293-1298, 2012.
- 4) Nakamura T, Kajimura M, Morikawa T, Hattori K, Ishikawa M, Yukutake Y, Uchiyama S-I, and Suematsu M: Acute CO2-independent vasodilatation of penetrating and pre-capillary arterioles in mouse cerebral parenchyma upon hypoxia revealed by a thinned-skull window method. Acta Physiol. 203:187-196, 2011.

〔学会発表〕(計 6件)

- 1) 石川眞実、他。くも膜下出血1時間後のline scanによる毛細血管血流の解析。STROKE 2017 第42回日本脳卒中学会 2017年3月17日 大阪国際会議場(大阪府大阪市)
- 2) 石川眞実、他。くも膜下出血直後の脳微小循環障害 - neurovascular dysfunctionとno-reflow phenomenon -。STROKE 2016 第45回日本脳卒中の外科学会 2016年4月16日 ロイトン札幌/さっぽろ芸術文化の館/札幌市教育文化会館(北海道札幌市)
- 3) 石川眞実、他。くも膜下出血直後の病態生理 - 2光子励起レーザー顕微鏡による微小循環障害の解析 -。STROKE 2014 第43回日本脳卒中の外科学会 2014年3月14日 大阪国際会議場(大阪府大阪市)
- 4) Mami Ishikawa, et al. The blood cell flow and the vascular responses in

arterioles and capillaries after subarachnoid hemorrhage. 第39回日本微小循環学会 2014年2月7日 北里大学薬学部コンベンションホール(東京都港区)

- 5) 石川眞実、他。くも膜下出血直後の脳微小循環障害 - 細動脈血管反応性と毛細血管内血球速度の解析 -。第25回日本脳循環代謝学会 2013年11月1日 京王プラザホテル札幌(北海道札幌市)
- 6) Mami Ishikawa, et al. Cerebral microcirculation immediately after subarachnoid hemorrhage. Joint Meeting 27th European Microcirculation Society and 7th European Vascular Biology Organisation during the IUPS meeting. July 21-26, 2013. Birmingham, UK.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

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〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者

石川 真実 (Ishikawa Mami)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合
研究センター・客員研究員

研究者番号：60212859

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()