

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870456

研究課題名(和文)軸索伸長関連因子発現制御による新しい脳保護療法と神経再生医療

研究課題名(英文)A novel neuroprotection and regeneration therapy by the control of the factors related to axonal growth

研究代表者

出口 健太郎 (Deguchi, Kentaro)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・講師

研究者番号：80467753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：ラット脳梗塞モデルで、血液脳関門ならびにペリサイト(血管周囲細胞)に着目し、エダラボンや、強力な血栓溶解剤のtPAを付加した際の発現の変化を検討した。梗塞後脳ではペリサイトは梗塞直後には減少、4日後をピークに増加、tPA投与により減少、エダラボン投与により増加、また、エダラボン投与によりペリサイトならびに血液脳関門の構造が保たれ、同部位からGDNFといった神経栄養因子の分泌促進が判明し、梗塞後脳の中樞神経組織修復に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Changes of pericytes in the neurovascular unit (NVU) after the cerebral ischemia in rats were examined in relation to the effects of exogenous tissue plasminogen activator (tPA) and a free radical scavenger, edaravone. Immunohistochemistry and Western blot analyses showed that the overlap between pericytes and endothelial cells increased significantly at 4 days after 90 min of transient middle cerebral artery occlusion (tMCAO). The number of pericytes and the overlap with endothelial cells decreased with tPA, but recovered with edaravone 4 days after tMCAO with proliferation. Thus, tPA treatment damaged pericytes resulting in the detachment from astrocytes and a decrease in GDNF secretion. However, treatment with edaravone greatly improved tPA-induced damage to pericytes. The present study demonstrates that exogenous tPA strongly damages pericytes and destroys the integrity of the NVU, but edaravone treatment can extremely ameliorate such damage after acute cerebral ischemia in rats.

研究分野：神経内科

キーワード：慢性期脳梗塞 再生治療 血液脳関門 脳保護療法

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、中枢神経組織では、障害後に神経組織再生を阻害する様々な因子が発現しており、脳梗塞後には脳組織は脱落し、多くの患者が高度の機能障害を後遺しているのが現状である。したがって、これらの疾病の再生治療のためには、何らかの scaffold (足場) を急性壊死巣に留置することが必要となる。我々はこの点に着目し、bFGF と EGF といった栄養因子を付加した多孔質新規生体材料が、神経細胞が障害された領域に生着するための scaffold (足場) となり得るかどうかを検討し、グリア細胞を主体とした脳組織が新生することを確認し報告した。しかし、新生した組織は量的に限られており、また、神経細胞はその組織内に見つけることはできなかった。脳組織再構築のためには、神経細胞、グリア細胞、血管を構成する細胞など、多種の細胞の移動、増殖、分化といった多段階に必要な各種栄養因子の適切な時期での提供が必要と考えられた。また、組織再生のためには、新生する組織が周囲の正常組織とシナプス形成を介して構造的に結合する一連の流れを、脳組織の発生と同様に急性期から慢性期にかけて連続して進める検討が必要であると考えられた。

2. 研究の目的

そこで、我々は臨床で実際に行われている急性期治療におけるシナプス形成への関与に注目した。以前にラット脳梗塞モデルを用いて、シナプス形成に関わる軸索伸長関連因子のコンドロイチン硫酸プロテオグリカン的一种であるニューロカンが脳梗塞発症4日後をピークに発現を増加していることを明らかにしている。そこで、フリーラジカルスカベンジャーのエダラボン、現在臨床で使用されている唯一の脳保護薬であるが、軸索伸長関連因子にどのように関与しているのか、血栓溶解療法で使用されている tPA とともにエダラボンを投与したラット脳梗塞モデルを用いて検討した。その結果、tPA は脳梗塞直後に各種の軸索伸長促進因子だけでなく、阻害因子の発現も減少させ、エダラボンは逆に両者を増加させることを見出した。このことは、軸索伸長を促進する因子ならびに阻害する因子いずれもが脳保護作用に関与していることを示唆する。一方で、慢性期脳梗塞モデルや脊髄損傷モデルでは、軸索伸長阻害因子の発現抑制により、中枢神経組織障害後の神経再生を促進することも示されている。つまり、障害が起こった後、神経組織保護に重点が置かれる急性期と、神経再生に重点が置かれる慢性期で、軸索伸長関連因子の発現を別々にコントロールすることで、中枢神経組織の修復を効果的に行える可能

性があると考えられる。

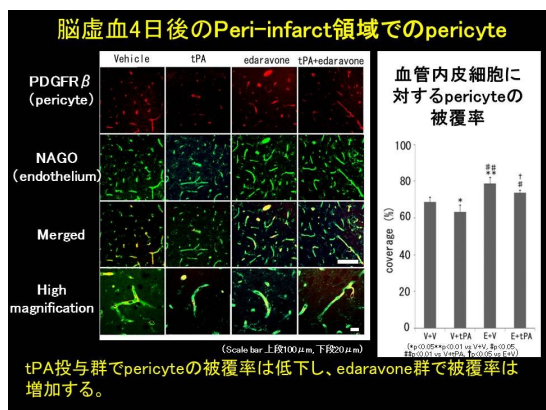
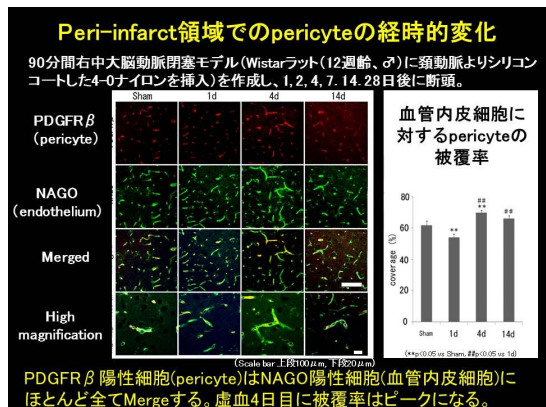
3. 研究の方法

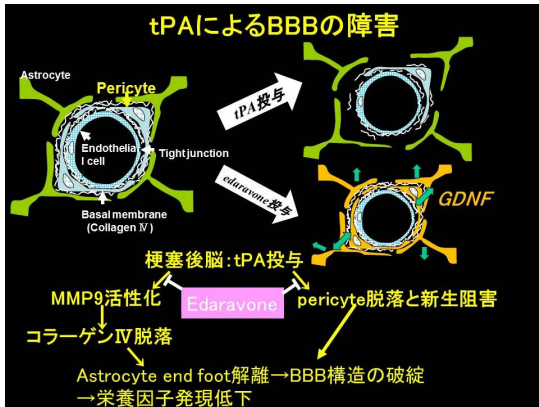
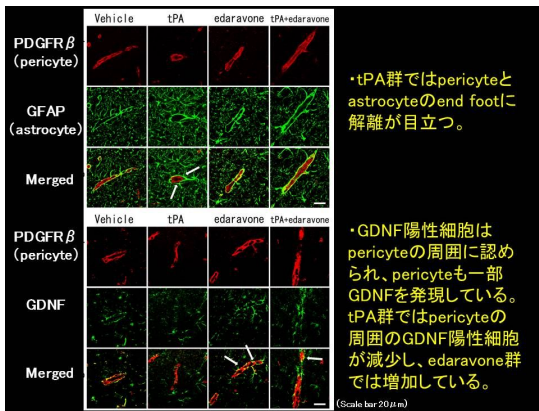
本研究では、第一の研究として、ラット脳梗塞モデルで、血液脳関門ならびにペリサイト(血管周囲細胞)に着目し、エダラボンや、強力な血栓溶解剤の tPA を付加した際の発現の変化を検討した。

第二の研究として、近年、臨床の現場で実際に使用されている降圧薬のテルミサルタンに、中枢神経組織修復の可能性があるのかをラット脳梗塞モデルを用いて検討した。ラット脳梗塞モデルにテルミサルタンを6か月、12か月、18か月という長期に投与し、脳組織を観察した。

4. 研究成果

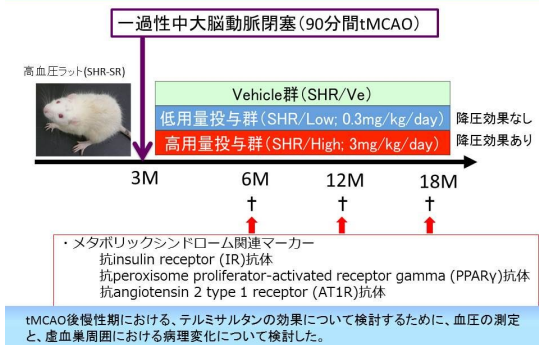
第一の研究では、梗塞後脳ではペリサイトは梗塞直後には減少、4日後をピークに増加、tPA 投与により減少、エダラボン投与により増加、また、エダラボン投与によりペリサイトならびに血液脳関門の構造が保たれ、同部位から GDNF といった神経栄養因子の分泌促進が判明し、梗塞後脳の中枢神経組織修復に関与している可能性が示唆された。



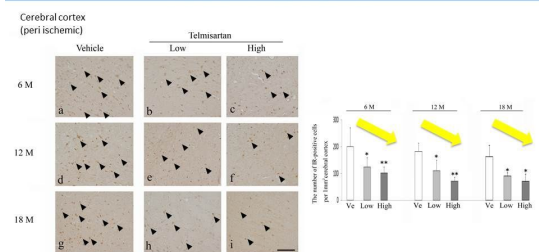


第二の研究では、梗塞後脳で、脂質代謝異常、インスリン抵抗性、各種炎症などを抑制し、脳組織に保護的に作用する PPAR 陽性細胞が増加し、血圧上昇、酸化ストレス、各種炎症を促進し、脳組織に障害を与える AT1R 陽性細胞が減少し、梗塞後脳の中樞神経組織修復に関与している可能性が示された。

## 方法

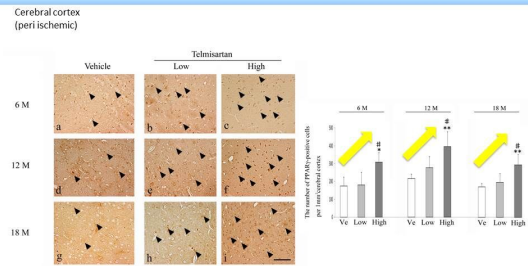


## Insulin receptor (IR)



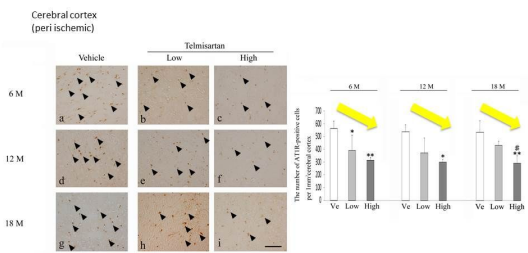
tMCAO後、IR陽性細胞はテルミサルタン投与により、用量依存性に有意に低下し、長期にわたりその傾向を維持した。

## Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ)



tMCAO後、PPARγ陽性細胞はテルミサルタン投与により、用量依存性に有意に増加し、長期にわたりその傾向を維持した。

## Angiotensin 2 type 1 receptor (AT1R)



tMCAO後、AT1R陽性細胞はテルミサルタン投与により、用量依存性に有意に低下し、長期にわたりその傾向を維持した。

## 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3件)

1. Deguchi K, Kawahara Y, Deguchi S, Morimoto N, Kurata T, Ikeda Y, Ichikawa T, Tokunaga K, Kawai N, Sugiu K, Abe K  
A patient develops transient unique cerebral and cerebellar lesions after unruptured aneurysm coiling.  
BMC Neurol. 2015;15:49(査読有り)

2. Deguchi K, Kurata T, Fukui Y, Liu W, Yun Z, Omote Y, Sato K, Kono S, Hishikawa N, Yamashita T, Abe K.  
Long-term amelioration of telmisartan on metabolic syndrome-related molecules in stroke-resistant spontaneously hypertensive rat after transient middle cerebral artery occlusion.  
J Stroke Cerebrovasc Dis. 2014;23(10):2646-53.(査読有り)

3. Deguchi K, Liu N, Liu W, Omote Y, Kono S, Yunoki T, Deguchi S, Yamashita T, Ikeda Y, Abe K.  
Pericyte protection by edaravone after tissue plasminogen activator treatment in rat cerebral ischemia.  
J Neurosci Res. 2014;92(11):1509-19.(査読有り)

〔学会発表〕(計2件)

1. 2015.2.11

International stroke conference 2015  
(Nashville, USA)

Deguchi K, Liu W, Omote Y, Kono S, Yunoki  
T, Deguchi S, Fukui Y, Ohta Y,  
Hishikawa N, Yamashita T, Abe K  
Pericyte protection by edaravone after tPA  
treatment in rat cerebral ischemia

2. 2012. 7. 7

第92回神経学会地方会(徳島)

出口健太郎 香西由子 出口章子 森本展  
年 倉田智子 池田佳生 松浦徹 阿部康  
二 杉生憲志 徳永浩司 河井信行  
未破裂脳動脈瘤コイル塞栓術後に多発性の  
脳病変を呈した一例

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

出口 健太郎 (DEGUCHI KENTARO)

岡山大学・岡山大学大学院医歯薬学総合研  
究科・講師

研究者番号：80467753

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし