

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10306

研究課題名(和文) 脳梗塞発症後のマクロファージ活性化とその制御による脳保護作用

研究課題名(英文) Activation of M2-type macrophages in the late phase of cerebral ischemia promotes neurogenesis with cleaning of the infarct area.

研究代表者

八木 謙次 (Yagi, Kenji)

福岡大学・医学部・講師

研究者番号：80551837

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)：脳梗塞後M1様マクロファージはIFN- γ やTNF- α などを産生し炎症性作用を示すが、M2様マクロファージはIL-10やTGF- β などを産生し虚血後の脳損傷部位で神経再生に働く可能性が考えられている。血清糖タンパクであるGc proteinは炎症によって誘導される α -galactosidaseやsialidaseといった酵素によりマクロファージ賦活作用のあるGcMAF(Gc protein macrophage activating factor)に変化する。虚血後期にGcMAFはM2様マクロファージの賦活化による貪食作用を介した脳梗塞部位のclearanceや神経再生に関与することを見出した。

研究成果の概要(英文)：Brain ischemia promotes the recruitment of various cell types to the brain. Group-specific component protein-derived macrophage activating factor (GcMAF) has various functions including activation of M2-type macrophages and the improvement of motor disability. We tested whether activation of M2-type macrophage by GcMAF after brain ischemia induces beneficial effects. In the early phase of post-ischemia, GcMAF had no beneficial effects. In the late phase, it promoted the clearance of the infarct area; elevated the mRNA level of arginase-1 and increased CD163+ M2-like macrophages in the peri-infarct region. They co-localized with CD36+ and CD68+ but not Iba-1+ cells. Treatment with GcMAF increased in the incorporation of BrdU and the appearance of NeuN+ and MAP2+ cells in the peri-infarct region mildly improved the neurological deficit. The activation of M2-like macrophages by GcMAF in the late phase may play a therapeutic role.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：脳・神経 脳梗塞 M1/M2様マクロファージ 炎症性サイトカイン phagocytosis 神経再生

1. 研究開始当初の背景

脳梗塞発症予防効果に対する研究は数多く行われており、脳梗塞のリスクファクターに関連した治療薬を用いて申請者らもその脳損傷抑制効果や、メカニズムをこれまでに報告してきている (Stroke 2009, 2011, Hypertension 2012, 2014 in revision)。

近年、脳梗塞後の炎症や免疫作用に関連した報告が多くなってきているが、マクロファージの役割についての詳細な検討は十分なされていない。

脳虚血後、早期と後期ではマクロファージの果たす役割が異なる可能性が考えられる。そこで、マクロファージに着目し、脳虚血後の M1 および M2 マクロファージの発現を継時的に調べ、虚血ペナンプラにおけるこれらの役割を明らかにする。さらに虚血後期に着目し、GcMAF によるマクロファージの活性化が、虚血脳損傷に及ぼす影響について調べ、その分子機構を解明するために本研究を行う。

2. 研究の目的

脳梗塞後の虚血性脳損傷には炎症や免疫機構が深く関係することが報告されている。これらに対し重要な役割を果たすマクロファージの代表的な M1 および M2 タイプの活性化や役割についての詳細な検討はほとんどされておらず、治療可能な領域と考えられているペナンプラ領域での発現や役割についての報告も少ない。本研究は虚血後の各マクロファージの発現変化を脳虚血モデルのペナンプラで調べ、さらにマクロファージ賦活作用を有する Gc-MAF (Group-specific component derived Macrophage Activating Factor) を用いマクロファージを活性化した場合の脳損傷に及ぼす影響を調べ、各タイプのマクロファージの役割を明らかにし、治療標的としての可能性を探求することを目的とする。

3. 研究の方法

脳梗塞後の M1 および M2 マクロファージの発現を解析し、虚血境界領域におけるこれらの役割を明らかにするため、マクロファージ活性化作用を示す GcMAF を用い、脳保護作用における各マクロファージとの関連や、有効性の分子機構を解析する。

(1) 脳虚血後早期と後期のマクロファージの発現 (M1 / M2 マクロファージの比率) を虚血境界領域の脳組織からの免疫染色や定量 real-time PCR により解析し、GcMAF による影響も調べる。

(2) 虚血の後期治療における GcMAF の作用に対する、マクロファージ枯渇による影響を clodronate liposome を用いて、調べる。

(3) 虚血境界領域での神経再生に関わる分子と M2 マクロファージの発現の関連を

解析する。

(4) 脳梗塞が拡大する急性期に抗炎症作用物質を前投与し、GcMAF と併用した場合の影響を評価する。

4. 研究成果

順調に進展しており、英文誌に投稿したが、現在、reviewer comments に対応するための追加実験を実施中である。脳梗塞急性期には M2 マクロファージ活性化は奏功しないため、急性期に抗炎症作用物質を投与し、脳梗塞拡大抑制と神経再生促進についての論文が受理されたこの知見脳梗塞後期に M2 マクロファージを賦活する意義を明らかにしており、急性期に M1 マクロファージの発現が高く、脳梗塞が拡大する急性期に抗炎症作用物質を投与し、これを制御する方策をみだしてあり、今後脳梗塞後期に GcMAF と併用した場合の影響を評価する。

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 11 件)

1. Kinouchi T, Kitazato KT, Shimada K, Yagi K, Tada Y, Matsushita N, Kurashiki Y, Satomi J, Sata M, Nagahiro S. Treatment with the PPAR Agonist Pioglitazone in the Early Post-ischemia Phase Inhibits Pro-inflammatory Responses and Promotes Neurogenesis Via the Activation of Innate- and Bone Marrow-Derived Stem Cells in Rats. *Transl Stroke Res.* 2018 Jun 9(3):306-316 査読あり
2. Miki K, Yagi K, Nonaka M, Iwaasa M, Abe H, Morishita T, Arima H, Inoue T. Spot sign predicts rebleeding after endoscopic surgery for intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg.* 2018 May25:1-6 in-press 査読あり
3. Nonaka M, Yagi K, Abe H, Miki K, Morishita T, Iwaasa M, Inoue T. Endoscopic Surgery via a Combined Frontal and Suboccipital Approach for Cerebellar Hemorrhage. *Surg Neuro Int.* 2018 Apr5 In press 査読あり
4. Nagahiro S, Tada Y, Satomi J, Kinouchi T, Kuwayama K, Yagi K, Nakajima K, Matsushita N, Miyamoto T, Yamaguchi T, Shimada K, Korai M, Mure H, Okayama Y, Abe T, Harada M, Kitazato KT, Kanematsu Y. Treatment of Unruptured Cerebral Aneurysms with the Mineralocorticoid Receptor Blocker

- Eplerenone-Pilot. J Stroke Cerebrovasc Dis.2018 Apr2 InPress 査読あり
5. Saita K, Morishita T, Arima H3, Hyakutake K, Ogata T, Yagi K, Shiota E, Inoue T. Biofeedback effect of hybrid assistive limb in stroke rehabilitation: A proof of concept study using functional near infrared spectroscopy. PloS One. 2018;13:e0191361. 査読あり
 6. Yoshinaga T, Yagi K, Morishita T, Abe H, Nonaka M, Inoue T. Cerebral and spinal cavernomas associated with Klippel-Trenaunay syndrome: case report and literature review. Acta Neurochir (Wien). 2018Feb ;160:287-290. 査読あり
 7. Maekawa H, Tada Y, Yagi K, Miyamoto T, Kitazato KT, Korai M, Satomi J, Hashimoto T, Nagahiro S. Bazedoxifene, a selective estrogen receptor modulator, reduces cerebral aneurysm rupture in Ovariectomized rats. J Neuroinflammation. 2017 Oct 2;14:197 査読あり
 8. Sogabe S, Satomi J, Tada Y, Kanematsu Y, Kuwayama K, Yagi K, Yoshioka S, Mizobuchi Y, Mure H, Yamaguchi I, Abe T, Yamamoto N, Kitazato KT, Kaji R, Harada M, Nagahiro S. Intra-arterial high signals on arterial spin labeling perfusion images predict the occluded internal carotid artery segment. Neurology. 2017 Jun 59(6):587-595. 査読あり
 9. Yagi K, Nakagawa H, Mure H, Okita S, Nagahiro S: Cryptic recanalization of chronic vertebral artery occlusion by head rotation. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2017 Apr ;26 : e60-61 査読あり
 10. Yamaguchi I, Satomi J, Yamamoto N, Yoshioka S, Tada Y, Yagi K, Kanematsu Y, Nagahiro S. Coexistence of quasi-moyamoya disease and POEMS syndrome in a patient with intracranial hemorrhage: a case report and literature review, NMC Case Report 2017 Jan 4(1), 5-9, 査読あり
 11. Yamaguchi I, Satomi J, Yamamoto N, Yoshioka S, Tada Y, Yagi K, Kanematsu Y, Nagahiro S. Coexistence of Quasi-moyamoya Disease and POEMS Syndrome in a Patient with Intracranial Hemorrhage: A Case Report and Literature Review. NMC Case Rep J. 2016 Dec 8;4:5-9. 査読あり
 12. Sumiyoshi M, Kitazato KT, Yagi K, Miyamoto T, Kurashiki Y, Matsushita N, Kinouchi T, Kuwayama K, Satomi J,

Nagahiro S, The accumulation of brain water-free sodium is associated with ischemic damage independent of the blood pressure in female rat. Brain Research. 2015 1616:37-44 査読あり

〔学会発表〕(計 6件)

1. 日本脳神経外科総会 第76回学術総会 脳・脊髄に多発する症候性血管腫を呈した Klippel-Trenaunay syndrome の1例 八木謙次、吉永貴也、森下登史、安部洋、野中将、東登志夫、井上亨
2. 日本脳神経外科総会 第76回学術総会 後大脳動脈瘤・上小脳動脈瘤に対する複合的治療の問題点 安部洋、松本徳彦、三木浩一、小林広昌、湧田尚樹、森下登史、八木謙次、野中将、岩朝光利、東登志夫、井上亨
3. 第43回日本脳卒中学会学術集会 脳卒中に対する内視鏡下血腫除去術後の再出血リスクファクターの検討 三木浩一、八木謙次、野中将、岩朝光利、安部洋、森下登史、有馬久富、井上亨
4. 第47回日本脳卒の外科学会学術集会 CEA後の kinking stenosis を危惧し、内径動脈の shortening procedure を施行した1例 小林広昌、湧田尚樹、森下登史、八木謙次、安部洋、野中将、東登志夫、井上亨
5. 第47回日本脳卒の外科学会学術集会 脳卒中慢性期運動麻痺に対する系図外直流電気刺激療法を利用したリハビリテーション 森下登史、百武光一、斉田和哉、八木謙次、安部洋、井上亨
6. 第47回日本脳卒の外科学会学術集会 小脳出血に対する神経内視鏡手術の複合戦略 野中将、天本宇昭、三木浩一、小林広昌、湧田尚樹、八木謙次、安部洋、岩朝光利、井上亨

〔その他〕

International Clinical Fellowship, AOSpine (Asia Pacific) , 2016年 CHF2,500(約287千円)Spineのgrantを追加

6. 研究組織

(1)研究代表者

八木 謙次 (YAGI, Kenji)
福岡大学・医学部・講師
研究者番号：80551837

(2)研究分担者

永廣 信治 (NAGAIRO, Shinji)

徳島大学・病院・病院長
研究者番号： 60145315

宇都 義浩 (UTO, Yoshihiro)
徳島医大学・大学院社会産業理工学研究部
(生物資源産業学域)・教授
研究者番号： 20304553