

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10738

研究課題名(和文)脳循環調節機構における一酸化炭素とアストロサイトの役割

研究課題名(英文)Role of carbon monoxide and astrocyte on cerebral microcirculation

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・脳神経科学研究センター・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) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：脳血流低下により、血管周囲アストロサイトのCa濃度は上昇し、細動脈は瞬時に拡張するが、痛覚刺激時と異なるアストロサイトのCa濃度が上昇し、細動脈の拡張率も異なっていた。COとCaシグナルとの関連性が指摘されており、脳虚血時の痛覚刺激によるアストロサイトのCa濃度上昇が正常時よりも低いことから、虚血によるアストロサイトの機能低下がCa濃度に影響し、COが関与する脳循環予備能の低下から生じる神経機能障害に関連する可能性が示唆された。しかし、CO合成酵素のノックアウトマウスでCO産生が低下した状態では、脳虚血発生時の急激な脳血管拡張反応は保たれていたことから、急性期と慢性期の反応の違いが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アストロサイトは、酸素とブドウ糖を神経細胞に供給する血流を調節する機能と神経細胞の情報伝達を調節する神経伝達物質をコントロールする機能をもち、アストロサイト内Ca濃度調節によりその調節が行われている。臨床的には、脳血流の軽度低下により、シナプスを介する複雑な神経機能の障害(高次脳機能障害)が、neurovascular junctionの可逆的な機能障害によって生じる。軽度血流低下によるアストロサイトの機能障害が高次脳機能障害を来し、さらに神経機能障害が強くなれば、脳血管性認知症をもたらすものと考えらる。アストロサイトの機能を解明し、その機能障害の改善をもたらす治療法の確立は重要である。

研究成果の概要(英文)：Elevation of Ca in astrocyte and dilation of arterioles after cerebral ischemia were different from those after pain stimulation. After cerebral ischemia, change of elevation of Ca may decrease cerebral vascular reserve due to change of CO and affect nerve function. In acute phase of cerebral ischemia in heme oxygenase 2 knockout mice, arteriolar dilation response was observed. Differences between cerebral vascular reserves in acute phase and chronic phase and between nerve functions in the two phases are suggested. In clinical patients with decrease of cerebral blood flow, I demonstrated association between cerebral vascular reserve and cognitive function. I plan further experimental and clinical investigation.

研究分野：脳微小循環

キーワード：脳微小循環 アストロサイト カルシウム 脳虚血

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心臓から送られた血液は、内頸動脈や椎骨動脈から頭蓋内へ運ばれ、中大脳動脈、前大脳動脈、後大脳動脈、脳底動脈に代表される脳主幹動脈を介して、まず脳表全域に運ばれる。脳の神経細胞やアストロサイトへの血流は、脳組織をとり囲む脳軟膜を貫通してはじめて脳細胞近傍に到達する。その後、毛細血管を介して細静脈を通して脳軟膜を再度貫通して脳表に血流が運ばれて、心臓へもどる脳主幹静脈へもどる。この軟膜を貫通して脳に血液を送る脳細動脈が脳血流調節の主体をなしている。2 光子顕微鏡が vivo での動物実験に導入されてこういった血流が実際に観察されるようになり、また、脳表から垂直に貫通して入る血管は脳神経外科手術では観察されていたが、さらに最近の高性能超音波医療機器による専用造影剤を用いた研究で血流動態までが明らかとなってきた。ここで、脳組織内で細動脈をとりかこむアストロサイトは脳血流の情報を受け取り神経へ送る、また、神経からの調節情報を脳血管に反映させると予想される。アストロサイトは多くの無数の足突起を伸ばすことで、神経細胞と細動脈と情報交換を行い、神経調節機能と脳循環調節機能の両方に関与する可能性が示唆されてきた。

2. 研究の目的

脳血流低下、低酸素、血中二酸化炭素の増大、また、神経細胞が機能する時に、脳細動脈は拡張し脳血流は増大する。脳血管拡張物質として注目される一酸化窒素(NO)や硫化水素(H₂S)の合成酵素の活性を、一酸化炭素(CO)が調節していることを我々は報告してきた。痛覚刺激などにより、神経が機能する脳の領域の血流量は上昇し、脳細動脈を取り巻くアストロサイトのCa濃度が変化するのは、アストロサイトと神経細胞との情報交換である。脳血管閉塞などにより脳血流が低下したときの細動脈拡張にアストロサイトCa濃度の情報は関与するか、アストロサイトの役割は不明である。神経機能調節と脳血流調節機能に対する、アストロサイトの役割を明らかにし、脳血流障害後遺症や神経機能障害の病態解明と治療につながることを目的とした。

3. 研究の方法

マウスを クロラロース、ウレタン麻酔にて全身麻酔をかける。手術用の顕微鏡下に、気管切開の後、股動静脈にライン確保し、薬の投与、蛍光試薬の投与、血液ガス分析用の採血、血圧測定を行った。体温は、全身麻酔後、常に37度前後になるように、保温器を用いる。

頭窓は、左頭頂骨に作成して、操作はできる限り迅速に行い、脳へのダメージを最小限にした。人工髄液や体温は37度前後に保てるように注意し、状態で安定してから観察まで、30 - 60分待ち、生理的観察条件になるようにする。

Wild type マウス、GFAP-GFP マウス、Heme oxygenase (HO) knockout mouse、アストロサイト内 Ca 濃度変化をとらえる GCaMP マウスを用いた。全身麻酔下で頭窓を作成し、頭頂部の脳を観察可能な状態で、2 光子生体蛍光顕微鏡システムを用いて、脳表から深さ 100-200 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・アストロサイトの細胞内 Ca²⁺濃度変化を捉えた。これらの観察を、総頸動脈閉塞後、中大脳動脈閉塞に、観察し、障害前との変化を検討した。

脳虚血やくも膜下出血や痛覚刺激による神経細胞の活動時の、細動脈血管反応性とアストロサイトCa濃度との関連性を検討する。

4. 研究成果

痛覚刺激によりその支配領域で観察しているとアストロサイトのCa濃度上昇を認める。何もしないで、観察のみをしているときにCa濃度上昇するのと異なるアストロサイトであっ

たり、同じアストロサイトでもCaが上昇する部位や程度が異なっている。頸動脈閉塞により脳血流低下すると、血管周囲のアストロサイトのCa濃度が上昇し、血管から離れたアストロサイトのCa濃度も上昇し、細動脈は瞬時に拡張するが、その反応は、痛覚刺激によりCa濃度が上昇したアストロサイトとは異なる細胞で、同じ細胞でもCa上昇部位が異なっているものと考えられた。血管の拡張の程度は、痛覚刺激後に比べて、頸動脈閉塞後の血管拡張の方が明らかに大きい。CO合成酵素のknockout miceでは、脳虚血発生時の急激な脳血管拡張機能は保たれているが、脳虚血時のアストロサイトのCa濃度上昇が、wildtype miceよりも小さいことから、脳循環予備能低下時のアストロサイトの機能低下が示唆され、臨床的な高次脳機能障害と関連している可能性が示唆されるが、超急性期の脳血管の拡張にCO-HO系の直接的関与は低いものと考えられた。

実際に脳神経外科手術において、脳血管の超音波画像を記録すると、脳表面から垂直に脳内に入り込んでくる血管が観察される。これはマウスで観察されるpenetrating vesselに相当すると思われる。

脳血流のみが低下する病態は、脳圧や神経細胞やアストロサイトの障害などいろいろな変化が脳におこらない軽度の脳血流変化が生じたときに達成される。このときの脳血管の反応性から、脳循環予備能が脳には存在することが明らかとなり、それが、高次脳機能評価により脳神経機能と関連づけて考えられることがわかってきた。これが、neurovascular functionに相当する機能的な考え方であることが、臨床的に証明した。マウスで内頸動脈閉塞後に、痛覚刺激を行うと、Ca濃度の上昇は抑制され、アストロサイトの機能低下が神経機能低下に関与する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ishikawa M et al.	4. 巻 373
2. 論文標題 Improvement of neurovascular function and cognitive impairment after STA-MCA anastomosis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Neurol Sci	6. 最初と最後の頁 201-207
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa M et al.	4. 巻 97
2. 論文標題 Ultrasonography Monitoring with Superb Microvascular Imaging Technique in Brain Tumor Surgery.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 World Neurosurg	6. 最初と最後の頁 749e11-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Heiji Naritaka, Mami Ishikawa et al.	4. 巻 75
2. 論文標題 Ultrasonographic Superb Microvascular Imaging for Emergency Surgery of Intracerebral Hemorrhage	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Clin Neurosci	6. 最初と最後の頁 206-209
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 石川眞実
2. 発表標題 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
3. 学会等名 第42回日本脳卒中学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Mami Ishikawa
2. 発表標題 Intraoperative Superb Microvascular Imaging (SMI) with contrast agent of ultrasonography
3. 学会等名 EANS2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mami Ishikawa
2. 発表標題 Brain and brain tumor microcirculation evaluated by ultrasonography with Superb Microvascular Imaging technique and contrast agent
3. 学会等名 第43回日本脳微小循環学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mami Ishikawa
2. 発表標題 Ultrasonography monitoring during neurosurcical operation using Superb Microvascular technique
3. 学会等名 EANS2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石川眞実
2. 発表標題 脳神経外科術中の微細血管超音波画像
3. 学会等名 第49回日本臨床神経生理学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	平瀬 肇 (Hirase Hajime) (90392084)	国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・ チームリーダー (82401)	