

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 25 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591983

研究課題名（和文）新規水チャネルの脳における機能解析-脳浮腫発症機序の解明に向けて-

研究課題名（英文）Function of a new aquaporin in the brain edema.

研究代表者

祖父江 和哉（SOBUE KAZUYA）

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：90264738

## 研究成果の概要（和文）：

麻酔・集中治療領域において、脳障害にともなう脳浮腫はしばしば遭遇する重要な病態である。しかし、その発生機序は十分には解明されていなかった。いくつかの報告や申請者の研究により、水チャネルであるアクアポリン 4（AQP4）が脳浮腫に深く関与している可能性が示唆されていた。一方、AQP4 に次いで発現量が多い AQP9 の機能は十分には解明されておらず、脳浮腫への関与も不明であった。本研究により、脳のアストロサイト（Ast）においては、p38 MAPK と NF- $\kappa$ B により AQP9 の発現が調節されていた。詳細な検討により、AQP9 は損傷初期には発現が低下し、その後高発現へと転じることが分かった。以上より、脳浮腫発生時には AQP4 に加えて AQP9 も大きな役割を果たすことを見出した。

## 研究成果の概要（英文）：

The membrane pore proteins, aquaporins (AQPs), facilitate the osmotically driven passage of water and, in some instances, small solutes. AQP4 plays important roles in maintaining brain homeostasis and formation of brain edema. However, little is known about function of AQP9 in brain edema. The expression of AQP9 is regulated by the p38 MAPK pathway. Hypoxia evoked a marked decrease in the expression levels of AQP9 and in astrocytes in vitro subsequent reoxygenation elicited the restoration of the expression of AQP9 to their basal levels. These results suggest that AQP9 may be one of the candidates for inducing the intracranial edema in the CNS after ischemia injury.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：水チャネル、中枢神経、発現調節

## 1. 研究開始当初の背景

麻酔・集中治療領域において、脳障害にもなう脳浮腫はしばしば遭遇する重要な病態である。脳浮腫は頭部外傷、脳血管障害、脳腫瘍など様々な病態に随伴して発症し、現在の治療では調節ができず致命的となることも多い。その病態は、Ast の膨化（水の移動による）とそれに伴う二次的神経細胞死と考えられている。しかし、その発生機序は十分には解明されていなかった。いくつかの報告や申請者の研究により、水チャネルであるアクアポリン 4 (AQP4) が脳浮腫に深く関与している可能性が示唆されていた (Arima and Sobue *et al.*, J Biol Chem, 2003、Yamamoto and Sobue *et al.*: Mol Brain Res, 2001)。一方、AQP4 に次いで発現量が多い AQP9 の機能は十分には解明されておらず、脳浮腫への関与も不明であった。

## 2. 研究の目的

AQP9 の脳における発現や機能を詳細に検討し、さらに脳損傷時の AQP9 の機能変化や脳浮腫発症への関与を検討する。これにより、脳浮腫発症機序の完全なる解明と新規脳浮腫治療法の開発へのヒントを得ることを目

指すものである。

## 3. 研究の方法

AQP9 の発現量は real time-PCR により、AQP9 蛋白質の発現量はウエスタンブロット法により調査した。組織については、抗 AQP9 抗体を用いた組織染色を行った。

脳における AQP9 の詳細な発現分布調査をラットの脳に対して行った。

AQP9 の発現調節機構を解明するため、代表的な細胞内情報伝達系 (PKC、PKA、p38 MAPK、ERK、JNK 等) や転写因子 (NF- $\kappa$ B) の阻害薬を使用して、AQP9 の発現量を調査した。

AQP9 の発現を低下 (AQP9 発現抑制系) させた培養細胞株を構築するため、RNAi 配列を piGENE/mU6 ベクター (Clontech 社) に組み込み、ピューロマイシン耐性遺伝子を発現する pPUR ベクター (Clontech 社) を同時に遺伝子導入した。

培養 Ast 低酸素・再酸素化モデル (Yamamoto and Sobue *et al.*: Mol Brain Res, 2001) を用いて、AQP9 の発現量を調査した。また、ラット脳凍結損傷モデルとラット中大脳動脈結紮モデル (脳虚血・再還流) を作成し、AQP9 の発現変化を詳細に検討した。

#### 4. 研究成果

ラット脳では Ast において AQP9 が発現していた。Ast においては、p38 MAPK と NF- $\kappa$ B により AQP9 の発現が調節されていた。AQP9 発現抑制系はほぼ完成したが、安定した効率の良い遺伝子導入が課題として残った。ラット脳凍結損傷モデルとラット中大脳動脈結紮モデルいずれにおいても、損傷初期には発現が低下し、その後高発現へと転じた。以上より、脳浮腫発生時には AQP4 に加えて AQP9 も大きな役割を果たすことを見出した。

#### 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 2 件)

- ① Aoyama M, Kataoka H, Kubota E, Tada T, Asai K:  
Resistance to chemotherapeutic agents and promotion of transforming activity mediated by embryonic stem cell-expressed Ras (ERas) signal in neuroblastoma cells.  
Int J Oncol 2011; 37: 1011-6

#### ② 祖父江和哉 他 5 名:

水チャネル<アクアポリン>の中樞神経における多様な機能と関連疾患.

日本歯科麻酔学会雑誌 2010; 38: 145-50.

[学会発表] (計 1 件)

高柳猛彦、祖父江和哉、他 8 名:

敗血症における astrocyte での HIF (hypoxia inducing factor)-1 の役割.

第 37 回日本集中治療医学会学術集会

2010 年 3 月 5 日 広島

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

祖父江 和哉 (SOBUE KAZUYA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 90264738

##### (2) 研究分担者

浅井 清文 (ASAI KIYOFUMI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 70212462

杉浦 健之 (SUGIURA TAKESHI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：20295611

(3) 連携研究者 該当者なし