

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791602

研究課題名(和文)電気刺激が脳梗塞に及ぼす影響 - 再生医療の観点から

研究課題名(英文)The effect of electrical stimulation for stroke

研究代表者

亀田 雅博 (Kameda, Masahiro)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：50586427

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：intactなモデルに対して行ったperforant pathwayへの電気刺激では、高頻度刺激と低頻度刺激とで分泌される栄養因子に差異を認めなかった。脳梗塞モデルラットに対するGLP-1受容体作動薬は、酸化ストレスを有意に抑制することと、VEGFのupregulationをもたらすことにより虚血保護効果を発揮することが確認された。パーキンソン病モデルに対する脊髄硬膜外刺激では、脊髄の刺激であるにもかかわらず、脳内でVEGFの分泌が亢進し治療効果が認められた。

研究成果の概要(英文)：The amount of secreted trophic factor was no significant difference between low frequent electrical stimulation and high frequent electrical stimulation in intact rats. GLP-1 analogue administration exerted neuroprotective effect in the middle cerebral artery occlusion model of rats by suppression of oxidative stress and VEGF upregulation. Extradural spinal cord stimulation for Parkinson's model of rat had a therapeutic effect by VEGF upregulation in the brain.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：実験脳外科学 電気刺激療法

### 1. 研究開始当初の背景

脳梗塞に対する電気刺激療法は米国では臨床研究まで進んでおり、一定の効果が得られているが、その機序はほとんど不明である。我々の研究グループでは長年にわたり、脳梗塞やパーキンソン病に対する細胞移植、遺伝子治療をはじめとした再生医療の研究を続けている。一方、臨床面では、パーキンソン病に対する外科治療として約10年の脳深部電気刺激治療の経験を有しており、電気刺激により劇的に症状が改善する症例はもちろん、精神症状の改善など副次的な効果についても認識している。そして、約5年前より動物モデルを用いた脳梗塞に対する電気刺激療法の研究を開始した。これまでにラット脳梗塞モデルに対して電気刺激を行い、栄養因子の分泌促進、炎症反応の抑制、抗アポトーシス効果、内在性の幹細胞を賦活化を通して、結果として電気刺激が、脳梗塞保護効果を持ち、損傷組織を置換すべく新生神経に遊走を促す作用をもつことを示してきた (Baba T et al., STROKE 2009, Morimoto T et al., Cell Transplant. 2010)。我々は今後、この電気刺激療法を脳梗塞をはじめとする中枢神経疾患に対して臨床応用することを目指しており、作用機序の更なる解明を図り、本研究を進展させていきたいと考えた。

### 2. 研究の目的

(1) 我々は、これまでに脳梗塞モデルに対して低頻度硬膜外電気刺激をおこなうことで、栄養因子の分泌促進が図られ虚血保護効果が生じることを証明している。また、intactなモデルに対する高頻度刺激は海馬歯状回における神経新生を促進することを証明している。今回、intactなモデルに対して電気刺激を加え、刺激頻度による栄養因子の分泌に違いがあるか検討すること、脳梗塞に対して、酸化ストレス・抗酸化力の観点から電気刺激療法の効果を検討することを目標とした。

(2) これまで脳梗塞に対する電気刺激実験を実施してきたが、より侵襲を下げる目的で、臨床現場で痛みなどの制御にその効果が認められている脊髄刺激をパーキンソン病モデルラットに対して実施し、その効果について検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) intactな状態のラットに対して perforant pathway に LTP を起こす刺激と LTD を起こす刺激を与え、分泌される栄養因子に差異があるかどうか検討してみた。また、脳梗塞モデルラットに対して、酸化ストレス・抗酸化力の観点から電気刺激療法の効果を議論する環境を作る目的もあり、GLP-1 受容体作動薬を腹腔内投与して、その脳梗塞保護効果について検討した。

(2) パーキンソン病モデルラットに対して、脊髄硬膜外刺激を行った。低頻度持続、中頻

度持続、高頻度持続の複数の刺激条件を設定し、より効率的な刺激条件を見つけることとした。そして、最も保護効果を認めた刺激条件にてそのメカニズムを検討すべく栄養因子について測定した。

### 4. 研究成果

(1) intactなモデルに対する電気刺激では、分泌されると予想される栄養因子の一つとして GDNF を ELISA にて測定してみたが、両群で有意な差を認めなかった。脳梗塞モデルラットに対して、GLP-1 受容体作動薬は、d-ROM テストにて評価される酸化ストレスを有意に抑制すること、ならびに VEGF の upregulation により虚血保護効果をもたらすことが確認された。この内容は論文に受理された。

(2) パーキンソン病モデルラットに対して、中頻度の脊髄持続刺激にて、行動学的にも組織学的にも有意に良好な結果を得ることが判明した。従来我々は、脳虚血モデルに対しては、低頻度持続刺激の神経保護効果を確認しており、一方で intactなモデルに対しては、Long-term potentiation を誘発する高頻度刺激が、海馬歯状回における効率的な神経新生を引き起こすことを確認している。今回のパーキンソン病モデルにおける脊髄持続刺激に関しては、低頻度刺激、高頻度刺激のいずれも最も良好な結果とならず、中頻度刺激が最も良好な結果をもたらした。そのため、神経新生以外のメカニズムがより治療効果に関係していると考え、脳内栄養因子の分泌について検討した。すると脊髄の刺激であるにもかかわらず、脳内で VEGF の分泌が亢進していることが確認された。この結果より、脊髄刺激が脳幹網様体などへ影響を及ぼしている可能性が示唆された。

### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 12 件)

1. The neuroprotective and neurorescue effects of carbamylated erythropoietin Fc fusion protein (CEPO-Fc) in a rat model of Parkinson's disease Tayra JT, Kameda M, Yasuhara T, Agari T, Kadota T, Wang F, Kikuchi Y, Liang H, Shinko A, Wakamori T, Vcelar B, Weik R, Date I Brain Research 1502: 55-70, 2013  
doi: 10.1016/j.brainres.2013.01.042.  
(査読有)
2. Mannitol enhances therapeutic effects of intra-arterial transplantation of mesenchymal stem cells into the brain after traumatic brain injury Okuma Y, Wang F, Toyoshima A, Kameda M, Hishikawa T, Tokunaga K, Sugiu K, Liu K, Haruma J, Nishibori M, Yasuhara T,

- Date I. *Neurosci Lett* 554: 156-61, 2013  
doi: 10.1016/j.neulet.2013.08.058.  
( 査読有 )
3. Neuroprotective effects of liraglutide for stroke model of rats  
Sato K, Kameda M, Yasuhara T, Agari T, Baba T, Wang F, Shinko A, Wakamori T, Toyoshima A, Takeuchi H, Sasaki T, Sasada S, Kondo A, Borlongan CV, Matsumae M, Date I *Int J Mol Sci* 14: 21513-24, 2013  
doi: 10.3390/ijms141121513 ( 査読有 )
  4. Regenerative medicine for epilepsy: from basic research to clinical application  
Yasuhara T, Agari T, Kameda M, Kondo A, Kuramoto S, Jing M, Sasaki T, Toyoshima A, Sasada S, Sato K, Shinko A, Wakamori T, Okuma Y, Miyoshi Y, Tajiri N, Borlongan CV, Date I *Int J Mol Sci* 14: 23390-401, 2013  
doi: 10.3390/ijms141223390. ( 査読有 )
  5. Activation of latent precursors in the hippocampus is dependent on long-term potentiation  
Kameda M, Taylor CJ, Walker TL, Black DM, Abraham WC, Bartlett PF *Translational Psychiatry* 2: e72, 2012 doi:10.1038/tp.2011.70 ( 査読有 )
  6. The therapeutic potential of human umbilical cord blood transplantation for neonatal hypoxic-ischemic brain injury and ischemic stroke  
Wang F, Maeda N, Yasuhara T, Kameda M, Tsuru E, Yamashita Y, Shen Y, Tsuda M, Date I, Sagara Y *Acta Medica Okayama* 66(6): 429-434, 2012 ( 査読有 )
  7. パーキンソン病モデルラットに対する間葉系幹細胞移植の治療効果  
王 飛罪、安原隆雄、亀田雅博、伊達 勲 *岡山医学雑誌* 124: 111-114, 2012 ( 査読有 )
  8. 穿通性頭部外傷に対する当科の治療方針  
亀田雅博、石田穰治、西田あゆみ、小野成紀、伊達 勲 *神経外傷* 35(2): 125-129, 2012 ( 査読有 )
  9. Activation of latent precursors in the hippocampus is dependent on long-term potentiation  
M Kameda, C J Taylor, T L Walker, D M Black, W C Abraham and P F Bartlett *Translational Psychiatry* (2012) 2, e72; doi:10.1038/tp.2011.70  
Published online 31 January 2012 ( 査読有 )
  10. Striatal stimulation nurtures endogenous neurogenesis and angiogenesis in chronic-phase ischemic stroke rats.  
Morimoto T, Yasuhara T, Kameda M, Baba T, Kuramoto S, Kondo A, Takahashi K, Tajiri N, Wang F, Meng J, Ji YW, Kadota T, Maruo T, Kinugasa K, Miyoshi Y, Shingo T, Borlongan CV, Date I.  
doi: 10.3727/096368910X544915. ( 査読有 )
  11. Mesenchymal stem cell transplantation therapy for Parkinson's disease and cerebral ischemia  
Wang F, Yasuhara T, Kameda M, Date I *Current Trends in Neurology* 5: 13-16, 2011 ( 査読有 )
  12. GDNF-pretreatment enhances the survival of neural stem cells following transplantation in a rat model of Parkinson's disease  
Wang F, Kameda M, Yasuhara T, Tajiri N, Kikuchi Y, Liang HB, Tayra JT, Shinko A, Wakamori T, Agari T, Date I. *Neurosci Res.* 2011 Sep;71(1):92-8. Epub 2011 Jun 15.  
doi: 10.1016/j.neures.2011.05.019. ( 査読有 )
- [ 学会発表 ] ( 計 26 件 )
1. 第 43 回日本脳卒中の外科学会学術集会 : STROKE 2014 : 大阪, 2014.03.04  
脳動脈瘤手術における母血管一時遮断時の頻回 MEP 測定の重要性 亀田雅博、菱川朋人、徳永浩司、三鍋博史、大西巧真、伊達 勲
  2. 第 6 回日本水頭症脳脊髄液学会学術集会 : 東京, 2013.12.01 iNPH 手術症例の比較検討 LP shunt first の方針に変更して ( シンポジウム ) 亀田雅博、菊池陽一郎、小野成紀、伊達 勲
  3. 平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「特発性正常圧水頭症の病因・病態と診断・治療に関する研究」班班会議 : 東京, 2013.11.22  
脳深部刺激療法 ( DBS ) 治療を受けたパーキンソン病患者とパーキンソン症状を合併した definite iNPH ( 特発性正常圧水頭症 ) 患者の画像比較 亀田雅博、伊達 勲
  4. 第 20 回日本神経内視鏡学会 : 甲府, 2013.11.08  
脳室内・脳室近傍病変に対する神経内視鏡を用いた治療 ( シンポジウム ) 亀田雅博、黒住和彦、市川智継、小野成紀、伊達 勲
  5. ( 一社 ) 日本脳神経外科学会第 72 回学術総会 : 横浜, 2013.10.16  
児童虐待による頭部外傷に対する診断と治療 ( シンポジウム ) 亀田雅博、荻原英樹、北川雅史、佐々木奈都、師田信人
  6. 第 16 回吉備脳神経外科手術フォーラム : 岡山, 2013.10.11  
MCDO 法で手術を行った頭蓋骨縫合早期癒合症の一例 亀田雅博
  7. The 41st Annual International Society for Pediatric Neurosurgery Meeting

- (ISPN2013): Mainz, Germany, September 29 - October 3, 2013. Spinal lipoma and VACTERL association Masahiro Kameda, Nobuhito Morota, Hideki Ogiwara, Masashi Kitagawa, Natsu Sasaki
8. 第 18 回日本脳腫瘍の外科学会：大津，2013.09.19 脳室内・脳室近傍腫瘍に対する神経内視鏡を用いた治療 亀田雅博、黒住和彦、市川智継、小野成紀、伊達 勲
  9. 第 19 回日本脳神経モニタリング学会：東京，2013.07.13 脳動脈瘤手術における母血管一時遮断の許容時間 運動野直接刺激による MEP モニタリングの結果から 亀田雅博、菱川朋人、徳永浩司、伊達 勲
  10. 第 30 回日本二分脊椎研究会：仙台，2013.07.06 脊髄脂肪腫と VACTERL 連合 亀田雅博、師田信人、荻原英樹、北川雅史、佐々木奈都
  11. 第 41 回日本小児神経外科学会：大阪，2013.06.08 外傷後の小児頭蓋形成術に対する我々の治療方針 亀田雅博、小野成紀、山田 潔、大西 学、伊達 勲
  12. 第 42 回日本脳卒中の外科学会：STROKE 2013：東京，2013.03.21-03.23 運動野直接刺激と経頭蓋刺激併用による未破裂脳動脈瘤手術時の MEP モニタリング 亀田雅博、菱川朋人、小野成紀、徳永浩司、伊達 勲
  13. 平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「特発性正常圧水頭症の病因・病態と診断・治療に関する研究」班班会議：東京，2012.11.10 腹腔鏡支援下脳室腹腔シヤントの有用性 亀田雅博、伊達 勲
  14. 第 19 回日本神経内視鏡学会：東京，2012.11.02-11.03 脳室内・脳室近傍腫瘍に対する神経内視鏡を用いた治療戦略 亀田雅博、黒住和彦、市川智継、小野成紀、伊達 勲
  15. The 4th Meeting of the International Society for Hydrocephalus and Cerebrospinal Fluid Disorders: Hydrocephalus 2012 Kyoto: Kyoto, Japan, 2012.10.19-10.22 Usefulness of laparoscopic-assisted placement of ventriculo-peritoneal shunt Kameda M, Ono S, Oyama T, Noda T, Date I
  16. (社)日本脳神経外科学会第 71 回学術総会：大阪，2012.10.17-10.19 電気刺激を用いた再生医療 神経新生をめざして 亀田雅博、安原隆雄、馬場義美、森本尊雅、松前光紀、伊達 勲
  17. 第 35 回日本神経科学大会：名古屋，2012.09.18-09.21 海馬に眠る神経新生能力は長期増強によって賦活化できる 亀田雅博、Chanel J Taylor、Tara L Walker、Debra M Black、Cliff W Abraham、伊達 勲、Perry F Bartlett
  18. 第 11 回日本再生医療学会総会：横浜，2012.06.13-06.14 電気刺激療法と再生神経新生をめざして 亀田雅博、安原隆雄、馬場胤典、森本尊雅、Taylor CJ、Abraham WC、Bartlett PF、Borlongan CV、松前光紀、伊達 勲
  19. 第 37 回日本脳卒中学会総会：STROKE2012：福岡，2012.04.26-04.28 Long-term potentiation (LTP) は内因性の神経幹細胞の活性化をもたらす 亀田雅博、Walker T、Bartlett P、伊達 勲
  20. 第 73 回(社)日本脳神経外科学会中国四国支部学術集会：松山，2012.04.07-04.08 未破裂脳動脈瘤手術時の MEP モニタリング 亀田雅博、菱川朋人、徳永浩司、伊達 勲
  21. 第 21 回脳神経外科手術と機器学会：大阪，2012.03.31 筋弛緩薬回復薬スガマデクスナトリウムを用いた経頭蓋 MEP モニタリング 亀田雅博、眞鍋博明、黒住和彦、市川智継、三好康之、伊達 勲
  22. 第 35 回日本脳神経外傷学会：東京，2012.03.09 穿通性頭部外傷に対する当科の治療方針 亀田雅博、石田穰治、西田あゆみ、小野成紀、伊達 勲
  23. 第 31 回日本定位・機能神経外科学会：東京，2012.01.21 STN-DBS がパーキンソン病患者の QOL に与える影響 年齢による患者満足度の相違 亀田雅博、上利崇、若森孝彰、新光阿以子、菊池陽一郎、佐々田晋、佐々木達也、大谷理浩、新土居口ベルト、伊達 勲
  24. (社)日本脳神経外科学会第 70 回学術総会：横浜，2011.10.12 MEP 測定における筋弛緩回復剤スガマデクスナトリウム(プリディオニ)の有用性 亀田雅博、菱川朋人、上利 崇、黒住和彦、眞鍋博明、徳永浩司、伊達 勲
  25. 第 34 回日本神経科学大会：横浜，2011.09.16 長期増強は潜在的神経前駆細胞の活性化をもたらす 亀田雅博、Tara Walker、伊達 勲、Perry Bartlett
  26. 第 36 回日本脳卒中学会総会：STROKE 2011：京都，2011.07.31 16.4 テスラ MRI はマウス海馬脳虚血を抽出できるか？ MRI と組織学的評価の比較検討 亀田雅博、Kurniawan Nyoman、Bartlett Perry F、伊達 勲
- 〔図書〕(計 3 件)
1. Regenerative medicine for neurological diseases with the use of electrical stimulation. Kameda M Regenerative Medicine and Tissue Engineering, Jose A. Andrades, Intech, Croatia, 2013, pp745-757
  2. Regenerative medicine for neurological diseases with the use of electrical stimulation. Masahiro

Kameda Regenerative Medicine and  
Tissue Engineering (ISBN  
978-953-51-1108-5) Accepted on  
December 22, 2012

3. Advances in Regenerative Medicine  
2011 Kameda M , In Tech, p404

6 . 研究組織

(1)研究代表者

亀田雅博 (KAMEDA MASAHIRO)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：50586427

以上