

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350811

研究課題名(和文) 運動療法による脳血管内皮幹細胞活性化の基礎的検討

研究課題名(英文) A basic study of activation of the cerebral endothelial progenitor cells by physical training

研究代表者

南條 博(Nanjo, Hiroshi)

秋田大学・医学部・准教授

研究者番号：70250892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：脳梗塞を念頭においた脳虚血障害に対し、運動療法により脳血管内皮幹細胞を活性化させ、脳血流量を回復させる基礎的研究を遂行した。マウスで片側内頸動脈閉塞による脳虚血モデルを作製し、トレッドミル運動療法を施行した。脳虚血発症早期の運動療法群では、患側脳の微小血管密度が1週後に1.9倍、2週後に2.7倍に増加した。一方、12ヶ月の慢性脳虚血後の晩期運動療法群では、患側脳の微小血管密度は2週後に2.0倍に増加した。脳虚血障害に対する運動療法による毛細血管新生(脳血流量の改善)に、脳血管内皮幹細胞が関与している可能性がある。

研究成果の概要(英文)：A basic study of activation of cerebral endothelial progenitor cells by physical training were studied in a mouse brain ischemia model. The results were as follows. In acute cerebral ischemia group, the capillary density of ischemic cerebral hemisphere increased by 1.9 times in a week, and increased by 2.7 times in two weeks from the beginning of physical training, compared with control. In chronic cerebral ischemia group, the capillary density of ischemic cerebral hemisphere increased by 2.0 times in two weeks, compared with control. We suppose neovascularization in the cerebral ischemic hemisphere would be accelerated by physical training, and associated with activation of cerebral endothelial progenitor cells.

研究分野：総合領域

キーワード：脳血管 内皮幹細胞 内皮細胞 運動療法 活性化

1. 研究開始当初の背景

脳梗塞、脳出血、心筋梗塞など、循環器系致死的疾患の主因とされる動脈硬化症や動脈瘤の本態についてはいまだ不明である。欧米諸国を中心に研究されてきた脂質代謝異常、特に高コレステロール血症が粥状動脈硬化の主因とされ、様々な抗コレステロール薬投与による治療が臨床の場で広く行われ、最近ではメタリックシンドロームという概念が浸透してきている。しかし、少なくとも日本では高コレステロール血症や高血圧がなくとも、動脈硬化症が進行している患者が多く存在する。また、最近では抗コレステロール薬投与により逆に脳梗塞の発症率を高める場合があることが判明し、高コレステロール血症の基準値が修正されるなど、高コレステロール血症の概念、病態、治療そのものの信頼性が揺らいでいる。早急に動脈硬化症や動脈瘤の本態を明らかにする必要がある。さらに、動脈硬化症を防ぐ方法として運動療法(トレーニング)が推奨されているが、そのメカニズムに対する明確な答えはいまだない。

成体には幹細胞が存在し、血管内皮前駆細胞が血液中に存在することが判明し(Asahara T, et al. Science 275: 964-967, 1997)、胚における血球発生において内皮細胞からBリンパ球が生じることが証明され(Nishikawa S, et al. Immunol. rev. 175: 112-119, 2000)、内皮幹細胞のより多能的あるいは祖先的な能力が注目されている。我々は血管内皮細胞の血流感知機能、血流に対するリモデリング機能を明らかにし(Nanjo H, Sho E, et al. Exp Mol Pathol. 80: 38-45, 2006. Sho E, Nanjo H, et al. J Vasc Surg. 41: 844-852, 2005. Sho E, Nanjo H, et al. J Vasc Surg. 39: 601-612, 2004. Sho E, Nanjo H, et al. Exp Mol Pathol. 75: 1-11, 2003, Ebina T, Nanjo H, et al: Pathol Int 52: 702-712, 2002)、大動脈瘤モデルにおいてCD34陽性血管幹細胞の局在と分化が血流制御に密接に関連することを証明してきた(Sho E, Nanjo H, et al. J Vasc Surg 41(5): 844-852, 2005. Sho E, Nanjo H, et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 20: 1916-1921, 2004)。そこで今回我々は、脳梗塞を念頭においた虚血脳障害組織の回復を目的とし、運動療

法により脳内の血管に存在する内皮幹細胞を活性化させ、内皮細胞、周皮細胞、樹状細胞への分化、増殖を促進し、脳虚血障害改善効果を明らかにする基礎的研究を遂行したいという着想に至った。

2. 研究の目的

脳虚血障害後の回復を目的とし、運動療法により脳内の血管に存在する血管幹細胞を活性化させ、脳血流回復効果を成体で明らかにする。具体的にはマウスの内頸動脈閉塞による脳虚血障害モデルを用いる。障害後に運動療法を行い、脳内の血管に存在する血管幹細胞を活性化させ、内皮細胞、周皮細胞、樹状細胞への分化、増殖を促進し、虚血障害脳組織の修復の主役となることを、形態学および分子病理学的解析により解明する。

3. 研究の方法

- (1)脳虚血モデルの作製: 10週齢のマウスを用い、三種混合麻酔のもと、手術用顕微鏡下に片側総頸動脈を露出し結紮閉塞させ、脳虚血障害モデルを作製した。
- (2)トレッドミル運動負荷モデルの作製: 脳虚血障害モデル作製翌日からトレッドミル運動負荷を開始した。運動は比較的軽めとし、5 m/分の速度で10分間の予備運動後10分間休憩させ、20m/分の速度で1日30分間運動をさせる。負荷は3日、1週、2週、4週間とし、それぞれトレッドミル運動負荷直後に屠殺し、負荷を課さない脳虚血モデルを手術コントロール群とした。また、脳虚血手術を施さないものを非手術コントロール群とした。
- (3)組織標本作製: マウスは三種混合麻酔薬の過量投与で屠殺し、4%パラホルムアルデヒド液で大動脈灌流固定後、脳を摘出し、凍結およびパラフィン組織ブロックを作製した。パラフィン組織ブロックでHE染色、EM染色標本作製した。
- (4)免疫組織学的検討: HIF-1a、CD34、SSEA-1、Sox2に対する抗体を用い、出現パターンを検討した。

4. 研究成果

得られた主な知見は以下の通りである。脳虚血発症早期の運動療法群では、患側脳の微小血管密度は1週後にコントロールの1.9倍(317個/mm²)、2週後に2.7倍(445個/mm²)に増加した。一方、12ヶ月の慢性

脳虚血後の晩期運動療法群では、患側脳の微小血管密度は2週後にコントロールの2.0倍(331個/mm²)に増加した。脳虚血障害に対する運動療法による毛細血管新生(脳血流量の改善)に、脳血管内皮幹細胞が関与している可能性がある。

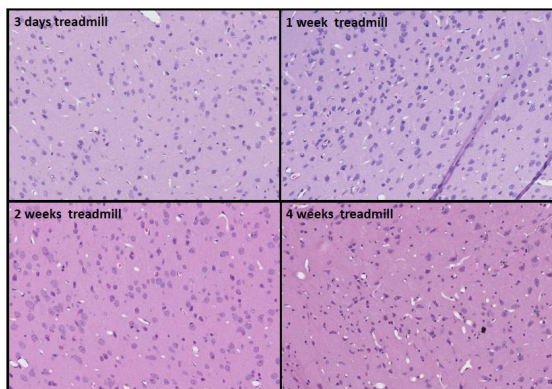


図1 急性脳虚血早期運動療法群

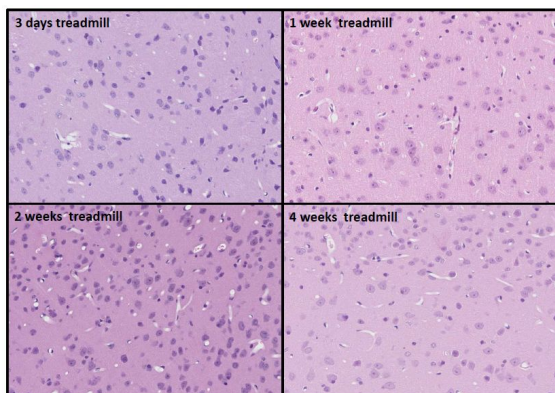


図2 慢性脳虚血晩期運動療法群

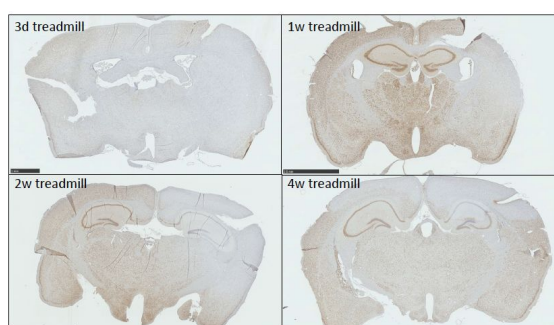


図3 HIF-1a免疫組織化学染色(慢性脳虚血晩期運動療法群)

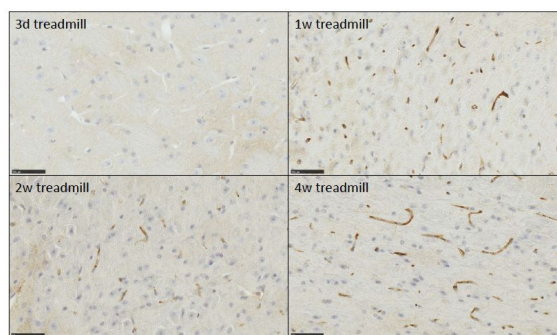


図4 SSEA-1免疫組織化学染色(慢性脳虚血晩期運動療法群)

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 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

Yukinobu Ito, Hiroshi Nanjo, Makoto Yoshida, Akiteru Goto, An experimental study on the effect of treadmill exercise using a mouse brain ischemia model, The 42nd Annual Meeting of Japan Society for Microcirculation, 2017年3月25-26日, 富山

Yukinobu Ito, Hiroshi Nanjo, Makoto Yoshida, Akiteru Goto, An experimental study on the effect of early rehabilitation using a mouse brain ischemia model, The 24th Annual Meeting of Japan Vascular Biology and Medicine Organization, 2016年12月8-10日, 長崎

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

南條 博 (NANJO, Hiroshi)

秋田大学・医学部・准教授

研究者番号：70250892

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()