

## 虚血性脳損傷に対する脳保護療法

上田 雅之

日本医科大学大学院医学研究科神経内科学

### Brain Protection Therapy for Ischemic Brain Injury

Masayuki Ueda

Department of Neurological Science, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

#### Abstract

Therapeutic strategies for protecting the brain against ischemic injury aim to salvage the ischemic penumbra or to expand the therapeutic time window, or both. We have investigated the protective effects of several agents using a rat model of transient focal cerebral ischemia. Our experimental studies have identified the following agents with attractive protective mechanisms against brain ischemia: the free-radical scavenger edaravone (MCI-186), the immunosuppressant tacrolimus (FK506), bone marrow stromal cells (BMSCs)/bone marrow mononuclear cells (BMMCs), the  $\omega$ 3 polyunsaturated fatty acid eicosapentaenoic acid (EPA), and the hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitor atorvastatin. The free-radical scavenger MCI-186 has a Bax/Bcl-2-dependent antiapoptotic mechanism in a rat model of transient focal cerebral ischemia. The therapeutic time window for FK506 in rat transient focal ischemia is from 60 to 120 minutes after ischemia induction, and mild hypothermia (35°C) expands the therapeutic time window up to 120 minutes after ischemia induction. Intravenous transplantation of BMSCs 120 minutes after ischemia induction, which is out of the therapeutic time window for FK506 alone, is neuroprotective when performed in conjunction with FK506 injection. Intra-arterial transplantation of BMMCs is more protective against transient focal cerebral ischemia than is intravenous transplantation of BMMCs. Repeated intravenous transplantation of BMMCs achieves further neuroprotection against ischemic brain injury. Pretreatment with ethyl-EPA inhibits endothelial Rho-kinase activation and reduces tissue oxidative stress following transient ischemia, resulting in strong neuroprotection. The long-term protective effects of atorvastatin against brain ischemia require continuous oral administration after ischemia/reperfusion. All of the agents used in our experimental studies are established therapies for ischemic stroke or other disorders. Further investigations are needed before such experimental brain protection strategies can be applied clinically.

(日本医科大学医学会雑誌 2014; 10: 164-171)

**Key words:** brain protection, ischemic brain injury, transient focal ischemia

## はじめに

遺伝子組み換え組織プラスミノゲンアクチベータ静注療法の適応が発症3時間から4.5時間に拡大され、さらに発症8時間以内の新規デバイスによる機械的血栓回収療法も承認され、脳梗塞の治療は超急性期血行再建の時代を迎えた。しかし、それらの治療は脳梗塞患者全体のせいぜい数%に実施されているに過ぎない。このため、不可逆的障害に陥っている虚血中心部 (ischemic core) の周辺に存在する可逆的な領域 (ischemic penumbra) の保護が重要であると考えられる。本邦では世界に先駆けてフリーラジカスカベンジャーが承認されて臨床の現場で脳保護療法が利用できるようになったが、この領域のさらなる発展が望まれている。本稿では虚血性脳損傷に対する脳保護療法について日本医科大学大学院医学研究科神経内科学分野脳虚血研究グループの基礎的検討を紹介する。

## 脳虚血の病態と脳保護療法

脳血管が閉塞すると血流途絶から酸素とブドウ糖の供給が絶たれ、急速に脳組織のATP枯渇が起こる。エネルギー供給の破綻から神経細胞膜のイオン勾配 ( $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ) の維持ができなくなり、細胞外に大量に放出されるグルタミン酸によるグルタミン酸受容体活性化を介して細胞内に大量の  $\text{Ca}^{2+}$  が流入する。細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  の上昇により一酸化窒素やフリーラジカルの産生を含む様々なプロセスが活性化され、アポトーシスを伴う神経細胞死に至る。この最終的な神経細胞死に至るまでの過程は脳虚血の程度と持続時間に依存しており、虚血発生から時間が経過すると不可逆的障害に陥っている虚血中心部が増大、治療可能な ischemic penumbra が減少する。この ischemic penumbra を救済し得る時間が治療可能時間 (therapeutic time window) であり、ischemic penumbra における障害を軽減することと therapeutic time window を延長することが脳保護療法の基本的な考え方である。

## フリーラジカスカベンジャー：MCI-186

われわれは、ラット一過性局所脳虚血モデル (intraluminal suture method) を用いて120分間の中大脳動脈閉塞を行い、再灌流後に  $\text{Mn}^{2+}$ ・diaminobenzidine (DAB) を含む溶液で灌流することで脳虚血再灌流後に産生されるスーパーオキシドアニ

オンを視覚化した<sup>1)</sup>、フリーラジカルによる酸化ストレスを軽減することが脳保護に繋がると考えられる。本邦で開発されたフリーラジカスカベンジャーのエダラボン (MCI-186) は強力な脳保護効果を有しており<sup>2)</sup>、世界初の脳保護薬として臨床の現場でも使用できるようになった。われわれはラット一過性局所脳虚血モデルを用いて120分間の中大脳動脈閉塞を行い、再灌流直後に MCI-186 (3.0 mg/kg) または vehicle を経静脈的に投与したところ、MCI-186 群で脳梗塞体積の有意な縮小と虚血領域大脳皮質におけるアポトーシス抑制因子 Bcl-2 の発現増強、アポトーシス促進因子 Bax の発現低下および TUNEL 陽性アポトーシス細胞数の減少を認め、MCI-186 の脳保護効果の機序として Bcl-2/Bax 依存性の抗アポトーシス作用が考えられた (図 1A)<sup>3)</sup>。さらにローズベンガルを用いたラット脳血栓モデル (photochemical thrombotic technique) においてトロンボキサン A2 合成酵素阻害薬オザグレレ (100 mg/kg) と MCI-186 (3.0 mg/kg) の併用効果を検討したところ、両者併用により脳梗塞体積の有意な減少を認めた (図 1B)<sup>4)</sup>。アラキドン酸の代謝過程で強力な血小板凝集作用と血管収縮作用を有するトロンボキサン A2 やフリーラジカルが産生されることから、臨床の現場でよく用いられるオザグレレとエダラボンの併用はより脳保護的に働くと考えられる。

## 免疫抑制薬：FK506

タクロリムス (FK506) は、臓器移植における拒絶反応の抑制および重症筋無力症や関節リウマチなどの自己免疫疾患に対して広く用いられている免疫抑制薬である。FK506 にはカルシニューリン阻害から一酸化窒素産生を抑制して動物実験で脳梗塞を縮小する効果があることが報告された<sup>5)</sup>、われわれも免疫抑制薬 FK506 の脳保護効果に注目してきた。ラット一過性局所脳虚血モデルを用いて120分間の中大脳動脈閉塞を行い、虚血導入30分後、60分後、120分後に FK506 (0.3 mg/kg) または vehicle を経静脈的に投与したところ、虚血導入60分後までは FK506 投与群で脳梗塞体積の有意な縮小を認めたが、虚血導入120分後の投与では FK506 の脳保護効果は認められなかった<sup>6)</sup>。このことから同モデルにおける FK506 (0.3 mg/kg) 経静脈的投与の therapeutic time window は、虚血導入60分~120分の間にあることが示唆された。また、同モデルで虚血導入30分後に FK506 (0.3 mg/kg) または vehicle を経静脈的に投与した再灌流24時間後

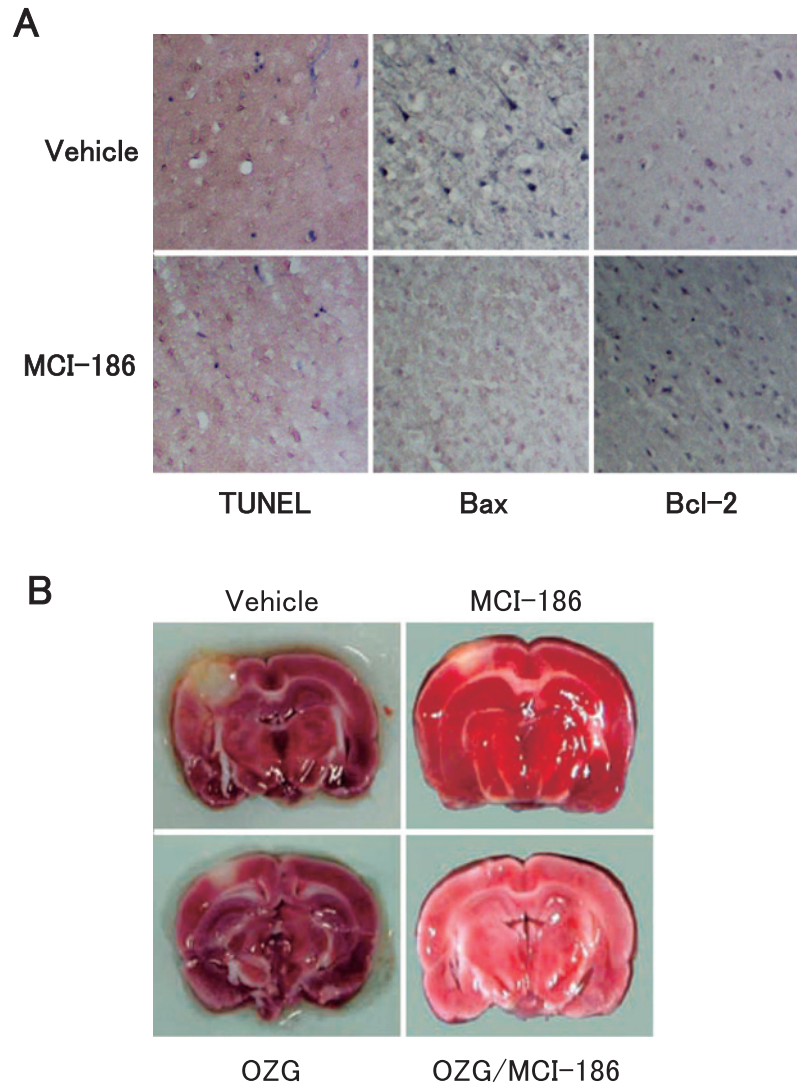


図1 フリーラジカルスカベンジャー MCI-186 の脳保護効果

**A:** 抗アポトーシス効果 (文献3より引用改変)

一過性局所脳虚血 (120 分間)/再灌流 24 時間後のラット大脳皮質における TUNEL 染色および抗 Bax 抗体・抗 Bcl-2 抗体を用いた免疫組織化学を示す。Vehicle 治療と比較して MCI-186 治療で TUNEL 陽性細胞・Bax 陽性細胞の減少、Bcl-2 陽性細胞の増加が認められた。

**B:** オザゲレルと MCI-186 の併用効果 (文献4より引用改変)

ラット脳血栓モデルにおける再灌流 72 時間後の TTC 染色を示す。オザゲレル (OZG) と MCI-186 の併用により脳梗塞巣の著明な減少を認めた。

のラット脳の免疫組織化学では、FK506 投与群で虚血領域大脳皮質における酸化的 DNA 損傷の指標の 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)、脂質過酸化の指標の 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE)、活性化ミクログリアの指標の ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba-1)、炎症性サイトカインの tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) の発現が低下しており、FK506 の脳保護効果として組織酸化ストレス減少と炎症反応抑制が考えられた<sup>7</sup>。さらに同モデルの FK506 の therapeutic time window を超えた虚血導入 120 分後に正常体温 (37°C) または軽微低体温 (35°C)

の状態では FK506 (0.3 mg/kg) または vehicle を経静脈的に投与したところ、軽微低体温 (35°C) と FK506 の併用でのみ脳梗塞体積の縮小効果を認めた<sup>8</sup>。このことは単独では脳保護効果を示さない程度の軽微低体温 (35°C) を併用することで FK506 の therapeutic time window が延長できたことを意味している。

#### 骨髓細胞移植

骨髓には造血細胞に加えて少量の骨髓間質細胞 (bone marrow stromal cell: BMSC) が含まれ、これ

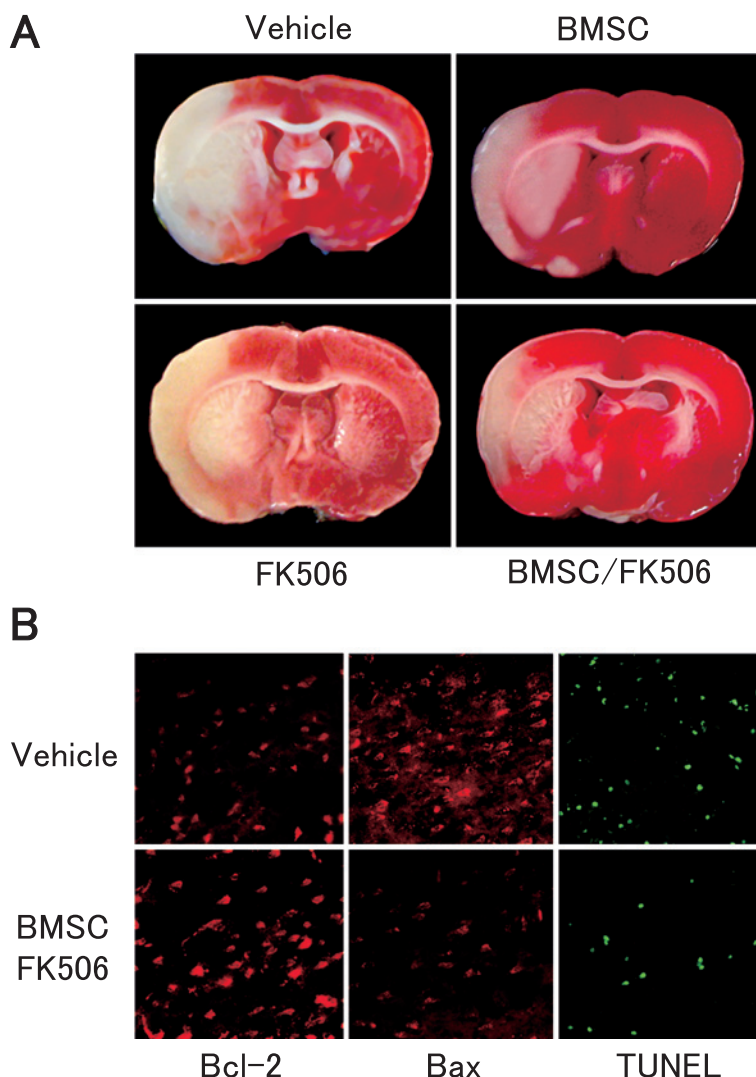


図2 骨髄間質細胞の脳保護効果 (文献9の元データから作成)

A: 一過性局所脳虚血 (90分間)/再灌流 24時間後の TTC 染色

FK506の therapeutic time window を超えた虚血導入 120分後における骨髄間質細胞 (BMSC) 投与および BMSC/FK506併用には脳梗塞縮小効果が認められた。

B: 抗アポトーシス効果

一過性局所脳虚血 (90分間)/再灌流 24時間後のラット大脳皮質における抗 Bcl-2 抗体・抗 Bax 抗体を用いた免疫組織化学および TUNEL 染色を示す。Vehicle 治療と比較して BMSC/FK506 併用治療で Bcl-2 陽性細胞の増加, Bax 陽性細胞・TUNEL 陽性細胞の減少が認められた。

らは神経栄養因子を産生することが知られている。BMSC 移植は脳梗塞モデルに対して保護的に働くが、移植細胞の大半は失われてしまうことが問題であった。われわれはラット一過性局所脳虚血モデルを用いて 90 分間の中大脳動脈閉塞を行い、FK506 の therapeutic time window を超えた虚血導入 120 分後の BMSC ( $1 \times 10^6$ ) の経静脈的移植に FK506 (0.3 mg/kg) の静注を併用する実験を行った。BMSC ( $1 \times 10^6$ )・FK506 (0.3 mg/kg) 併用群では脳梗塞体積の有意な縮小 (図 2A)、虚血領域大脳皮質における Bcl-2 の発現増強、Bax の発現低下、TUNEL 陽性アポトーシス

細胞数の減少を認め (図 2B)、さらに移植 BMSC の生存も併用群で有意に多いことを確認した<sup>9</sup>。

脳梗塞の細胞治療として有望な BMSC 移植ではあるが、移植細胞数を確保するための培養期間が必要であることから急性期脳梗塞に対する自家移植への応用は困難と思われる。一方、密度勾配遠心法を用いて骨髄細胞から得られる単核球分画 (bone marrow mononuclear cell: BMMC) には造血幹細胞、血管前駆細胞に加えて BMSC も含まれ、移植細胞の確保に培養期間を必要としない。われわれは臨床応用を見据えて BMMC の脳保護効果に注目してきた。ラット一

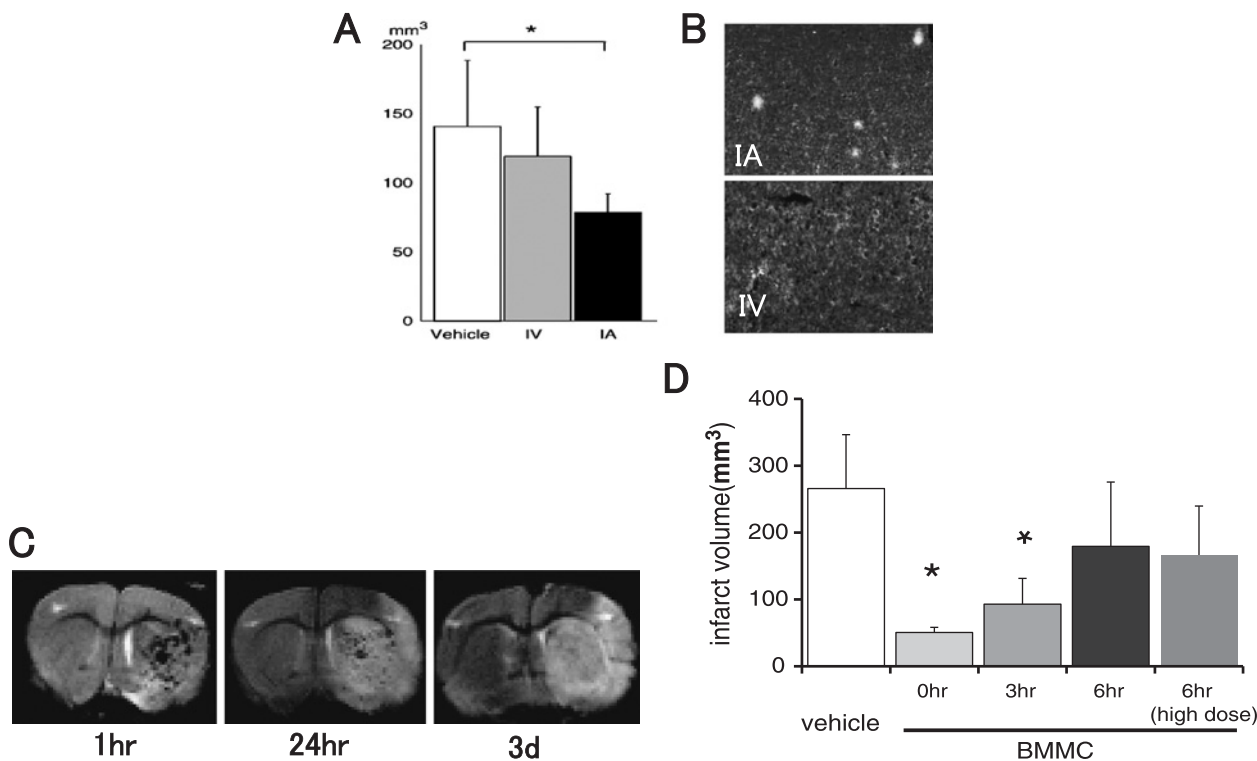


図3 骨髄単核球細胞の脳保護効果

**A**：内頸動脈経由の骨髄単核球細胞移植の効果（文献10より引用改変）

一過性局所脳虚血（90分間）/再灌流24時間後のTTC染色では、内頸動脈経由（IA）の骨髄単核球細胞（BMMC）投与でVehicle投与と比較して有意な脳梗塞体積の減少を認めたが、経静脈投与（IV）では統計学的有意差を認めなかった。

**B**：PKH26で標識した移植骨髄単核球細胞（文献10より引用改変）

PKH26で標識したBMMCを内頸動脈投与（IA）または経静脈投与（IV）した1時間後の観察では、虚血領域に対する高効率のBMMC導入をIA投与で認めた。

**C**：超磁性体鉄で標識した移植骨髄単核球細胞

ラット一過性局所脳虚血（90分間）モデルにおいて再灌流直後に超磁性体鉄（super paramagnetic iron oxide：SPIO）で標識したBMMCを虚血側内頸動脈経由投与1時間後（1hr）、24時間後（24hr）、3日後（3d）のT2強調画像を示す。移植直後に虚血領域に広範に分布したBMMCは経時的に減少した。

**D**：経静脈的骨髄単核球細胞移植のtherapeutic time window（文献12より引用）

ラット一過性局所脳虚血モデル（90分間）においてBMMC（ $1 \times 10^7$ ）またはVehicleを再灌流直後（0hr）、3時間後（3hr）、6時間後（6hr）に大腿静脈から投与、再灌流24時間後のTTC染色で脳梗塞体積を求めた。再灌流直後および3時間後のBMMC移植ではVehicle投与と比較して有意に脳梗塞体積が減少したが（\* $p < 0.05$ ）、再灌流6時間後の投与では通常投与（ $1 \times 10^7$ ）・倍量投与（ $2 \times 10^7$ ）のいずれにおいても脳保護効果は確認できなかった。

過性局所脳虚血モデルを用いて90分間の中大脳動脈閉塞を行い、虚血導入前に大腿骨から採取したBMMC（ $1 \times 10^7$ ）またはvehicleを再灌流直後に虚血側内頸動脈あるいは大腿静脈から投与したところ、頸動脈投与における脳梗塞縮小効果（図3A）と虚血領域に対する高効率のBMMC導入（図3B）を確認した<sup>10</sup>。また、超磁性体鉄（super paramagnetic iron oxide：SPIO）で標識したBMMCを虚血側内頸動脈経由で移植した後の移植細胞の分布と動態を7T MRI装置を用いて視覚化し、移植直後には虚血領域に広範に分布したBMMCが経時的に減少することを確認した（図3C）<sup>11</sup>。さらに脳虚血導入をMRIによる脳血流イメージで確認して均一な虚血侵襲とする方法を用いること

で、90分間のラット一過性局所脳虚血においてBMMC（ $1 \times 10^7$ ）を再灌流直後に大腿静脈から投与した場合も脳梗塞縮小効果があることを確認し、そのtherapeutic time windowは再灌流3時間から6時間の間にあることを報告した（図3D）<sup>12</sup>。なお、BMMC（ $1 \times 10^7$ ）急性期投与による脳保護効果のtherapeutic time windowを超えた再灌流6時間に加えて再灌流9時間にもBMMC（ $1 \times 10^7$ ）を繰り返し投与することで更なる脳保護効果が得られることを確認し、虚血領域大脳皮質における8-OHdG、4-HNE、Iba-1の免疫染色性が低下していることからBMMC繰り返し投与による組織酸化ストレスと炎症反応の減少が重要であると考えられた<sup>12</sup>。



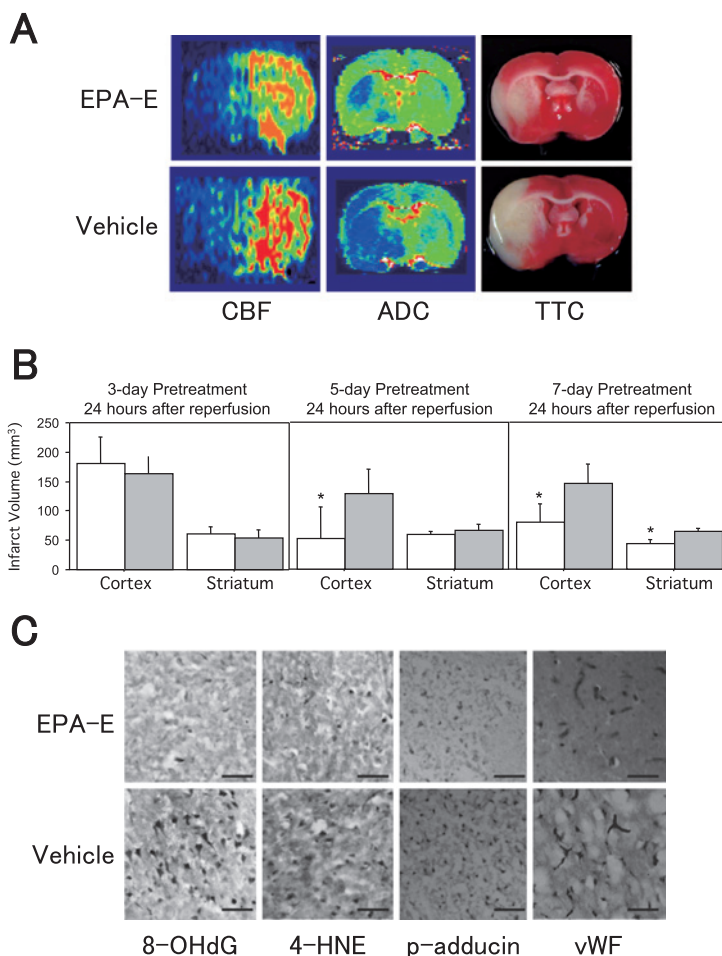


図4 ω3多価不飽和脂肪酸エイコサペンタエン酸の脳保護効果 (文献15から引用改変)

**A: MRI および TTC 染色**

エチルエイコサペンタエン酸 (EPA-E: 100 mg/kg/day) または vehicle を7日間連続経口投与して90分間の一過性中大脳動脈閉塞を行い、再灌流直前に continuous arterial spin labeling (CASL) 法による脳血流 (CBF) 画像と apparent diffusion coefficient (ADC) 画像を評価した。EPA-E 投与動物も Vehicle 投与動物も広範な脳血流低下を示したが (CBF), EPA-E 投与動物では ADC 低下領域が減少していた。再灌流24時間後の TTC 染色では EPA-E 投与動物で脳梗塞巣の縮小を認めた。

**B: 有効投与期間**

EPA-E の有効投与期間を明らかにするため、EPA-E (100 mg/kg/day) または vehicle を3日間、5日間または7日間連続経口投与して90分間の一過性中大脳動脈閉塞を行ったところ、虚血前5日間および7日間の EPA-E 投与により再灌流24時間後の脳梗塞体積の縮小を認めた。

**C: 免疫組織化学**

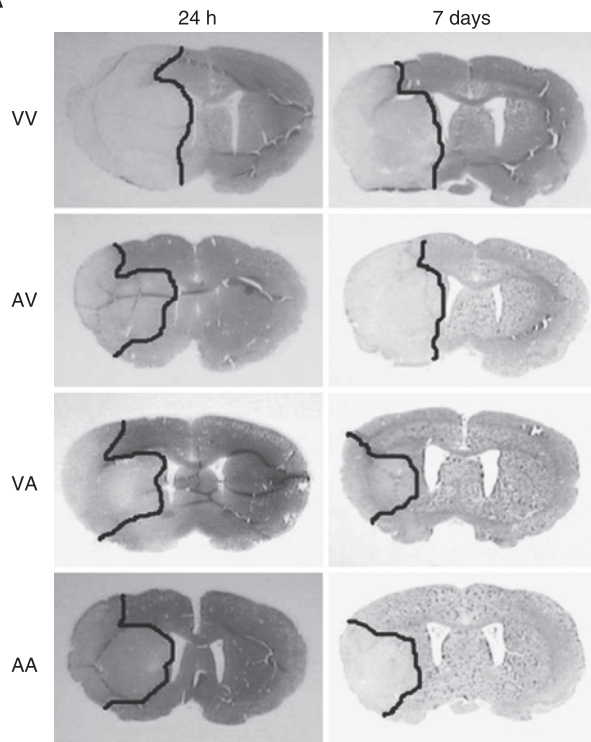
一過性局所脳虚血 (90分間)/再灌流24時間後のラット大脳皮質における抗 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 抗体・抗 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) 抗体、抗 p-adducin 抗体、抗 von Willbrand factor (vWF) 抗体を用いた免疫組織化学を示す。虚血領域大脳皮質の 8-OHdG・4-HNE・p-adducin・vWF 陽性細胞は、Vehicle 投与動物では増加しているが、7日間連続の EPA-E (100 mg/kg/day) 投与を受けた動物では減少している。

**ω3 多価不飽和脂肪酸: エイコサペンタエン酸**

魚摂取量と脳卒中発症リスクには負の相関があり、魚油に含まれる ω3 多価不飽和脂肪酸のエイコサペンタエン酸 (eicosapentaenoic acid: EPA) の多面的効果が示唆されている。エチルエステル化することで高純度化した EPA (ethyl-EPA: EPA-E) は脂質異常

症の治療薬として利用可能であり、われわれの教室では脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (SHR-SP: stroke prone spontaneously hypertensive rat) に EPA-E (100 mg/kg/day) を連日経口投与することで年齢依存性の脳血流減少が抑制されること<sup>13</sup>、慢性期脳梗塞ラットに EPA-E (100 mg/kg/day) を連日経口投与することで脳梗塞周囲の脳血流が増加すること<sup>14</sup>を報告してきた。さらに90分間のラット一過性

A



B

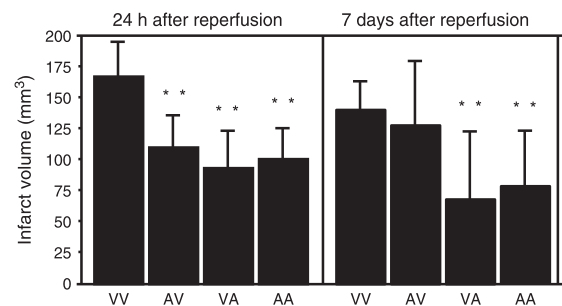


図5 コレステロール合成阻害薬アトルバスタチンの脳保護効果 (文献16より引用改変)

A: ヘマトキシリン・エオジン染色

90分間のラット一過性局所脳虚血に対してVehicleのみ投与(VV), 虚血前7日間のアトルバスタチン(20 mg/kg)投与(AV), 虚血後7日間のアトルバスタチン(20 mg/kg)投与(VA), 虚血前7日間および虚血後7日間のアトルバスタチン(20 mg/kg)投与(AA)を行い, 再灌流24時間後(24 h), 7日後(7 days)に行ったヘマトキシリン・エオジン染色を示す. 再灌流24時間後では, VV群の広範な脳梗塞巣に対してAV群・VA群・AA群では脳梗塞巣が縮小しているが, 再灌流7日後ではVA群・AA群(後投与群)で脳梗塞巣の縮小を認めた.

B: 梗塞体積

一過性局所脳虚血(90分間)/再灌流24時間後の脳梗塞体積は, VV群と比較してAV群・VA群・AA群で有意に縮小していた. 一方, 再灌流7日後ではVV群と比較してVA群・AA群で有意に脳梗塞体積が縮小していたが, AV群では統計学的有意差が消失していた.

局所脳虚血におけるEPA-Eの脳保護効果についても検討した<sup>15</sup>. EPA-E(100 mg/kg/day)またはvehicleを7日間連続経口投与して90分間の一過性中大脳動脈閉塞を行ったところ, 再灌流直前の脳血流画像では2群間に差は認めなかったが, 組織障害を反映するapparent diffusion coefficient(ADC)画像ではEPA-E投与群でADC低下領域が著明に縮小しており, 再灌流24時間後の脳梗塞体積もEPA-E投与群で減少していた(図4A). さらにEPA-Eの有効投与期間を明らかにするため, EPA-E(100 mg/kg/day)またはvehicleを3日間, 5日間または7日間連続経口投与して90分間の一過性中大脳動脈閉塞を行ったところ, 虚血前5日間および7日間のEPA-E投与により脳梗塞体積の縮小を認めたが(図4B), EPA-Eの虚血後投与(100 mg/kg/day, 600 mg/kg/day)では脳梗塞縮小効果を認めなかった. なお, EPA-E(100 mg/

kg/day)の7日間連続経口投与により, 虚血領域大脳皮質におけるp-adducin(Rho-キナーゼ活性化の指標)・von Willbrand factor(vWF)陽性血管密度(血管内皮の指標), 8-OHdG・4-HNE陽性細胞数が減少しており(図4C), EPA-Eによる脳虚血後の血管内皮におけるRho-キナーゼ活性化の抑制と組織酸化ストレスの減少が脳保護効果の機序と考えられた.

#### コレステロール合成阻害薬

(HMG-CoA還元酵素阻害薬):アトルバスタチン

コレステロール合成阻害薬スタチンの脳保護効果はよく知られており, 虚血前投与が有効であったという報告が多いが, 虚血後にスタチンを中断すると脳保護効果が減弱するとの報告や脳虚血後のスタチン投与も有効であったとの報告も散見される. われわれは, 90

分間のラット一過性局所脳虚血に対して虚血前7日間あるいは虚血後7日間のアトルバスタチン (20 mg/kg) または vehicle の経口投与を行った<sup>16</sup>。再灌流24時間後の脳梗塞体積はアトルバスタチン前投与群, アトルバスタチン後投与群, アトルバスタチン継続投与群のいずれにおいても縮小していたが, 再灌流7日後の脳梗塞体積ではアトルバスタチン前投与群の脳保護効果は消失していた (図 5A~B)。虚血領域大脳皮質におけるアトルバスタチンの8-OHdG・4-HNE 免疫染色性の低下効果は投与中断24時間後でも認められたが, 投与中断7日後では消失していた。一方, Iba-1・TNF- $\alpha$  免疫染色性の低下効果は投与中断24時間後でも消失しており, 酸化ストレス軽減効果と抗炎症効果を持続させて脳保護効果を得るためには, アトルバスタチンの継続投与が重要と考えられる。

### おわりに

実験的脳虚血に対する脳保護療法について日本医科大学大学院医学研究科神経内科学分野脳虚血グループからの研究を紹介した。脳梗塞の臨床に用いられている薬剤から他疾患に対する治療法として確立しているものまでいずれも臨床の現場で実際に使用されている手段である。この分野の臨床応用が進むことで脳梗塞の治療に種々の脳保護療法が利用できるようになることを願っている。

謝辞：本稿で紹介した研究をご指導頂いた日本医科大学名誉教授の赫彰郎先生と片山泰朗先生, 著者とともに基礎研究を行ってきた日本医科大学客員教授の神谷達司先生と日本医科大学大学院医学研究科神経内科学分野脳虚血研究グループの方々に深謝します。

### 文 献

- Mori T, Asano T, Matsui T, et al: Intraluminal increase of superoxide anion following transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res* 1999; 816: 350-357.
- Abe K, Yuki S, Kogure K: Strong attenuation of ischemic and postischemic brain edema in rats by a novel free radical scavenger. *Stroke* 1988; 19: 480-485.
- Amemiya S, Kamiya T, Nito C, et al: Anti-apoptotic and neuroprotective effects of edaravone following transient focal ischemia in rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 516: 125-130.
- Kamiya T, Nito C, Ueda M, et al: Cumulative neuroprotection by a combination of ozagrel sodium and edaravone against photochemical thrombotic ischemia in rats. *Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2005; 17: 233-240.
- Sharkey J, Butcher SP: Immunophilins mediate the neuroprotective effects of FK506 in focal cerebral ischaemia. *Nature* 1994; 371: 336-339.
- Arii T, Kamiya T, Arii K, et al: Neuroprotective effect of immunosuppressant FK506 in transient focal ischemia in rat: therapeutic time window for FK506 in transient focal ischemia. *Neurol Res* 2001; 23: 755-760.
- Nito C, Ueda M, Inaba T, Katsura K, Katayama Y: FK506 ameliorates oxidative damage and protects rat brain following transient focal cerebral ischemia. *Neurol Res* 2011; 33: 881-889.
- Nito C, Kamiya T, Ueda M, Arii T, Katayama Y: Mild hypothermia enhances the neuroprotective effects of FK506 and expands its therapeutic window following transient focal ischemia in rats. *Brain Res* 2004; 1008: 179-185.
- Suda S, Shimazaki K, Ueda M, et al: Combination therapy with bone marrow stromal cells and FK506 enhanced amelioration of ischemic brain damage in rats. *Life Sci* 2011; 89: 50-56.
- Kamiya N, Ueda M, Igarashi H, et al: Intra-arterial transplantation of bone marrow mononuclear cells immediately after reperfusion decreases brain injury after focal ischemia in rats. *Life Sci* 2008; 83: 433-437.
- Kamiya N, Ueda M, Igarashi H, et al: In vivo monitoring of arterially transplanted bone marrow mononuclear cells in a rat transient focal brain ischemia model using magnetic resonance imaging. *Neurol Res* 2013; 35: 573-579.
- Kamiya F, Ueda M, Nito C, et al: Effect of repeated allogeneic bone marrow mononuclear cell transplantation on brain injury following transient focal cerebral ischemia in rats. *Life Sci* 2014; 95: 22-28.
- Katayama Y, Katsumata T, Muramatsu H, et al: Effect of long-term administration of ethyl eicosapentate (EPA-E) on local cerebral blood flow and glucose utilization in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP). *Brain Res* 1997; 761: 300-305.
- Katsumata T, Katayama Y, Obo R, et al: Delayed administration of ethyl eicosapentate improves local cerebral blood flow and metabolism without affecting infarct volumes in the rat focal ischemic model. *Eur J Pharmacol* 1999; 372: 167-174.
- Ueda M, Inaba T, Nito C, Kamiya N, Katayama Y: Therapeutic impact of eicosapentaenoic acid on ischemic brain damage following transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res* 2013; 1519: 95-104.
- Saito T, Nito C, Ueda M, et al: Continuous oral administration of atorvastatin ameliorates brain damage after transient focal ischemia in rats. *Life Sci* 2014; 94: 106-114.

(受付：2014年5月7日)

(受理：2014年6月4日)