

令和元年6月22日現在

機関番号：34414

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18890

研究課題名(和文) アストログリアの機能調節による新規脳浮腫治療薬の探索

研究課題名(英文) Exploration of novel anti-edema drugs by regulation of astroglial functions

研究代表者

道永 昌太郎 (Michinaga, Shotaro)

大阪大谷大学・薬学部・助教

研究者番号：60624054

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、脳浮腫の発生に関わる脳細胞であるアストログリアを標的とした新たな脳浮腫治療薬の探索を目的として研究を行った。脳内において、脳浮腫の原因物質であるエンドセリンのETB受容体がアストログリアに多く分布していることが確認され、ETB受容体拮抗薬を投与すると、頭部外傷マウスにおけるアストログリアの過剰な活性化が抑制され、脳血管障害および脳浮腫も抑制された。また、これらの抑制作用にはアストログリアで産生される血管障害因子の減少と血管修復因子の増加が関わることも見出した。本研究成果により、ETB受容体拮抗薬はアストログリアの機能を調節することで脳浮腫に対する新規治療薬となりうることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳浮腫は頭部外傷や脳血管障害などによって脳がダメージを受けた際に生じ、突然死や運動・記憶障害などの後遺症を招いてしまう致命的な病態であるが、現在、脳浮腫を根本的に治療するための薬物治療法は確立されていない。本研究成果により、ETB受容体拮抗薬が頭部外傷マウスの脳浮腫を抑制できることが示されたので、さらなる詳細な研究を続けていくことで、将来的にはETB受容体拮抗薬が新たな脳浮腫治療薬として発展することが期待される。また、ETB受容体拮抗薬は脳血管障害に対しても抑制効果を示したことから、脳卒中や脳出血に対しても応用できることも期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on astroglia as a target of novel anti-edema drugs. Endothelin (ET) is a bioactive peptide which exerts the bioactive effects through ET receptors. As one of ET receptors, ETB receptors were mainly observed in astroglia. In traumatic brain injury (TBI) mice, cerebrovascular damage and brain edema were observed. BQ788, an ETB receptor antagonist attenuated cerebrovascular damage and brain edema in TBI mice. After TBI, excessive activation of astroglia was observed while BQ788 attenuated. We also confirmed that BQ788 decreased production of vascular injurious factors and increased production of vascular protective factor in TBI mice. These results suggest that BQ788 attenuates brain edema by recovery of cerebrovascular damage resulted from decrease of vascular injurious factors and increase of vascular protective factor. Thus, ETB receptor antagonist is expected to be a novel anti-edema drug by regulation of astroglial functions in future.

研究分野：中枢神経系薬理

キーワード：アストログリア 頭部外傷 血液脳関門 エンドセリン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳浮腫は頭部外傷などによって脳がダメージを受けた後に認められ、突然死や運動・記憶障害などの後遺症を招く重篤な病態である。しかしながら、現在までに脳浮腫を根本的に治療するための薬物治療法は確立されておらず、新たな治療薬の開発が必要とされている。脳浮腫の発生には脳グリア細胞の一種であるアストログリアが関与していることが周知されており、アストログリアの機能を調節できる薬は脳浮腫治療薬の候補となりうる可能性が考えられた。これまでの多くの研究により、生理活性ペプチドであるエンドセリンが脳浮腫の発生に関わっていることが示され、また、以前の本研究室で行われた研究の成果によって、エンドセリン受容体の一種である ETB 受容体が脳内においてアストログリアに多く分布し、アストログリアの機能をコントロールする役割を持つことを見出した。本研究では、頭部外傷後のアストログリアの機能および脳浮腫に対する ETB 受容体拮抗薬の効果を確認した。

2. 研究の目的

アストログリアは様々な脳疾患の病態形成に関わることが周知されているが、現在、臨床の現場で使用されている脳疾患に対する治療薬は神経細胞や脳血管に作用するものが主流であり、アストログリアを標的とした治療薬は確立されていない。また、頭部外傷などの脳傷害によって引き起こされる脳浮腫の発生にもアストログリアが関わっており、アストログリアに対して選択的に作用し、アストログリアの機能をコントロールできる薬は、これまで根本的な治療が困難とされてきた脳浮腫に対する新たな治療薬となりうることが想定された。以前の本研究室で行われた研究成果より、エンドセリンの ETB 受容体が脳内においてアストログリアに多く分布していることを見出していたので、ETB 受容体拮抗薬はアストログリア選択的に作用することでアストログリアの機能をコントロールできると考えられ、頭部外傷後の脳浮腫に対して有効性を示すことが想定された。本研究では、頭部外傷のモデルマウスを作製し、頭部外傷マウスの脳浮腫に対する ETB 受容体拮抗薬の効果および作用メカニズムを確認する目的で研究を行った。

3. 研究の方法

頭部外傷のモデルマウスを作製するために、流体衝撃傷害装置によって発生させる水圧によってマウスの頭部に水圧の打撃による外傷を与えた。脳浮腫の評価は脳組織における水分含有率の変化により行い、脳のバリア機能を担う血液脳関門の破綻はマウスの尾静脈より投与した Evans blue 色素の脳血管外への漏出により評価した。頭部外傷後のアストログリアの変化を確認するために、マウスの脳組織から凍結切片を作製し、アストログリア特異的に発現しているタンパク質である Glial fibrillary acidic protein (GFAP) に対する抗体およびこの抗体と反応する蛍光抗体を使用して蛍光免疫染色を行った。その後、GFAP 陽性細胞の数および形態を蛍光顕微鏡で観察した。また、血管透過性亢進因子および血管修復因子の発現変化は、Real-time PCR 法、Enzyme immunoassay (ELISA) 法および蛍光免疫染色法により確かめた。

4. 研究成果

頭部外傷を与えたマウスでは脳内の水分量が増加しており、脳浮腫が発生していることが確認された。この頭部外傷マウスに対して ETB 受容体拮抗薬である BQ788 を投与すると、脳内の水分量の増加が抑制されており、脳浮腫が軽減されていた。脳浮腫が発生する原因のひとつとして、脳内のバリア機能を担う血液脳関門の破綻が挙げられる。頭部外傷マウスでは血液脳関門の破綻がみられていたが、BQ788 を投与したマウスでは血液脳関門の破綻は抑制されていた。また、頭部外傷マウスの脳内でみられるアストログリアの過剰な活性化も BQ788 の投与によって抑制されていた。頭部外傷マウスの脳内では血液脳関門の破綻を引き起こす因子である血管透過性亢進因子 (Matrix metalloproteinase 9; MMP9 および Vascular endothelial growth factor-A; VEGF-A) の発現が増加しており、これらの因子はアストログリアで産生されていることが確認された。BQ788 を投与すると、アストログリアにおける MMP9 と VEGF-A の産生が抑制されていた。その一方で、BQ788 を投与した頭部外傷マウスの脳内では血液脳関門の破綻を修復するための因子である血管修復因子 (Angiopoietin-1; ANG-1) の産生が増加しており、ANG-1 の産生はアストログリアで確認された。これらの結果より、ETB 受容体拮抗薬はアストログリアにおける血管透過性亢進因子の産生を抑制し、血管修復因子の産生を増加させることによって血液脳関門の破綻を軽減し、これらの作用によって脳浮腫を抑制できることが示された。従って、ETB 受容体拮抗薬はアストログリアを標的とした新規脳浮腫治療薬として発展することが期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

1. Dual Roles of Astrocyte-Derived Factors in Regulation of Blood-Brain Barrier Function after Brain Damage.

Michinaga Shotaro, Koyama Yutaka.

Int J Mol Sci. 20, pii: E571 (2019). doi: 10.3390/ijms20030571.

2. Endothelin-1 stimulates expression of cyclin D1 and S-phase kinase-associated protein 2 by activating the transcription factor STAT3 in cultured rat astrocytes.
Koyama Yutaka, Sumie Satoshi, Nakano Yasutaka, Nagao Tomoya, Tokumaru Siho, Michinaga Shotaro.
J Biol Chem. 294, 3920-3933 (2019). doi: 10.1074/jbc.RA118.005614.
3. Delayed Administration of BQ788, an ETB Antagonist, after Experimental Traumatic Brain Injury Promotes Recovery of Blood-Brain Barrier Function and a Reduction of Cerebral Edema in Mice.
Michinaga Shotaro, Kimura Akimasa, Hatanaka Shunichi, Minami Shizuho, Asano Arisa, Ikushima Yuki, Matsui Shingo, Toriyama Yoshiya, Fujii Manami, Koyama Yutaka.
J Neurotrauma. 35, 1481-1494 (2018). doi: 10.1089/neu.2017.5421.
4. The Endothelin ETB Receptor Antagonist BQ788 Protects against Brain Edema after Fluid Percussion Injury by Decreasing Vascular Endothelial Growth Factor-A Expression in Mice.
Michinaga Shotaro.
Yakugaku Zasshi. 137, 1241-1246 (2017). doi: 10.1248/yakushi.17-00134.
5. Protection of the Blood-Brain Barrier as a Therapeutic Strategy for Brain Damage.
Michinaga Shotaro, Koyama Yutaka.
Biol Pharm Bull. 40, 569-575 (2017). doi: 10.1248/bpb.b16-00991.

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 頭部外傷マウスにおける Blood-brain barrier の破綻および脳浮腫に対するエンドセリン受容体拮抗薬 Bosentan の効果
道永 昌太郎, 中谷 隆聖, 福留 千裕, 井上 杏奈, 岩根 綾, 田邊 彩美, 山本 隼人, 龍 亮太郎, 水口 博之, 小山 豊
日本薬学会第 139 年会 (千葉, 2019 年)
2. Blockade of endothelin ETB receptor ameliorates brain edema by regulation of astrocyte-derived factors after traumatic brain injury in mice
Shotaro Michinaga, Ryusei Nakaya, Chihiro Fukutome, Anna Inoue, Aya Iwane, Ayami Tanabe, Hayato Yamamoto, Ryotaro Ryu, Hiroyuki Mizuguchi, Yutaka Koyama
第 92 回日本薬理学会年会 (大阪, 2019 年)
年会優秀発表賞受賞
3. 頭部外傷マウスの Blood-brain barrier 破綻に対するエンドセリン ETB 受容体拮抗薬 BQ788 による血管修復因子 Angiopoietin-1 の発現増加を介した抑制効果
道永 昌太郎, 中谷 隆聖, 福留 千裕, 井上 杏奈, 岩根 綾, 田邊 彩美, 山本 隼人, 水口 博之, 小山 豊
第 134 回日本薬理学会近畿部会 (神戸, 2018 年)
4. エンドセリン ETB 受容体拮抗薬によるマウス頭部外傷後の血液脳関門の破綻および脳浮腫に対する抑制効果
道永 昌太郎, 中谷 隆聖, 福留 千裕, 井上 杏奈, 岩根 綾, 田邊 彩美, 山本 隼人, 水口 博之, 小山 豊
第 12 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム (北海道, 2018 年)
5. Blockade of endothelin ETB receptor ameliorates blood-brain barrier disruption through increase of angiopoietin-1 after traumatic brain injury.
Shotaro Michinaga, Ryusei Nakaya, Chihiro Fukutome, Anna Inoue, Aya Iwane, Ayami Tanabe, Yutaka Koyama
18 th World congress of basic and clinical pharmacology 2018 (京都, 2018 年)
6. 頭部外傷マウスにおける Blood-brain barrier の破綻に対するエンドセリン ETB 受容体拮抗薬の効果
道永 昌太郎, 鳥山 佳勇, 藤井 愛望, 小山 豊
日本薬学会第 138 年会 (金沢, 2018 年)
7. 脳挫傷後のマウス脳浮腫に対するエンドセリン ETB 受容体拮抗薬 BQ788 の効果 (日本薬学会近畿支部会奨励賞受賞講演)

道永 昌太郎

第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会（兵庫, 2017 年）

8. 脳挫傷後の脳血管障害に対するエンドセリン ETB 受容体拮抗薬の効果

道永 昌太郎, 小山 豊

第 19 回応用薬理シンポジウム（東京, 2017 年）

9. Amelioration of BBB disruption and brain edema by BQ788, an endothelin ETB receptor antagonist through attenuation of matrix metalloproteinase-9 in cerebral contusion mice

Shotaro Michinaga, Yoshiya Toriyama, Manami Fujii, Yutaka Koyama

第 40 回日本神経科学大会（千葉, 2017 年）

10. BQ788, an Endothelin ETB receptor antagonist, improves disruption of blood brain barrier by affecting VEGF-A and claudin-5 expressions in cerebral contusion mice

Shotaro Michinaga, Arisa Asano, Yuki Ikushima, Shingo Matsui, Akimasa Kimura, Shunichi Hatanaka, Shizuho Minami, Yutaka Koyama

第 90 回日本薬理学会年会（長崎, 2017 年）

11. 流体衝撃による脳傷害後のマウス脳浮腫に対するエンドセリン ETB 受容体遮断薬の効果-血管透過性亢進因子 VEGF-A の関与-

道永 昌太郎, 麻野 有沙, 生島 佑起, 松井 伸悟, 木村 光克, 畠中 駿一, 南 志津保, 小山 豊

第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会（大阪, 2016 年）

平成 28 年度日本薬学会近畿支部奨励賞受賞

12. Effects of endothelin ETB receptor antagonist on acceleration of cerebral microvascular permeability and brain edema formation after fluid percussion injury in mice

Shotaro Michinaga, Akimasa Kimura, Shunichi Hatanaka, Shizuho Minami, Arisa Asano, Yuki Ikushima, Shingo Matsui, Yutaka Koyama

第 39 回日本神経科学大会（横浜, 2016 年 7 月）

〔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:

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:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。