

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16640

研究課題名(和文) ガレクチン-3のくも膜下出血後早期脳損傷発生メカニズムにおける役割の解明

研究課題名(英文) Role of galectin-3 for the mechanism of early brain injury after subarachnoid hemorrhage.

研究代表者

芝 真人 (Shiba, Masato)

三重大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30595682

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)：本研究ではガレクチン-3のくも膜下出血(SAH)後早期脳損傷における役割について検討した。マウスSAHモデルにおいてガレクチン-3のインヒビターであるmodified citrus pectin(MCP)がSAH後の早期脳損傷を抑制するかを調べたところ、MCPはERK1/2、STAT-3、MMP-9などの細胞内シグナリング関連蛋白を不活化することで、SAHによる神経症状の悪化、血液脳関門障害とガレクチン-3誘導を抑制した。これに引き続き精製ガレクチン-3を投与する実験を行ったところ、MCPにより抑制されていた血液脳関門障害と神経症状の悪化が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

くも膜下出血は予後不良な疾患であり、その治療介入可能な予後不良因子として早期脳損傷が挙げられる。しかしその病態の詳細なメカニズムについては未だ明らかとなっておらず、したがって、特異的な治療法も無いのが現状である。ガレクチン-3は種々の組織の細胞内外に存在し、アポトーシスや炎症における信号伝達に関与するとされている。今回ガレクチン-3がSAH後の脳において発現が増加し、様々な細胞内情報伝達機構を通して血液脳関門障害と脳浮腫に関連していることが明らかとなった。本研究の成果は将来ガレクチン-3抑制を介する新たな早期脳損傷に対する治療法の開発へと発展する可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate whether modified citrus pectin (MCP; galectin-3 inhibitor) prevents post-SAH early brain injury, focusing on blood-brain barrier (BBB) disruption. Male adult mice underwent sham or filament perforation SAH modeling, followed by an intracerebroventricular injection of vehicle or drug. First, vehicle-treated and MCP-treated mice were assessed by neuroscore, brain water content, Evans blue extravasation, Western blotting, immunostaining. Then, vehicle or R-galectin-3 (recombinant galectin-3) was administered to SAH mice simultaneously with vehicle or MCP, and neuroscore, Evans blue extravasation and IgG immunostaining were evaluated. MCP prevented post-SAH BBB disruption by inhibiting galectin-3, of which the mechanisms may include binding to TLR4 and activating ERK1/2, STAT-3, and MMP-9. R-galectin-3 blocked the neuroprotective effects of MCP. This study suggested galectin-3 would be a novel therapeutic target against early brain injury after SAH.

研究分野：くも膜下出血

キーワード：ガレクチン-3 くも膜下出血 早期脳損傷

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

くも膜下出血(SAH)は予後不良な疾患であり、その治療介入可能な予後不良因子として早期脳損傷が挙げられる。しかしその病態の詳細なメカニズムについては未だ明らかとなっておらず、したがって、特異的な治療法も無いのが現状である。マトリセル蛋白は分泌型の細胞外マトリックス蛋白の1つで、細胞表面の受容体と相互作用することにより細胞の機能を修飾する役割がある。その機能を明らかにして発現を制御することができれば、新たな脳保護治療戦略を構築できると考えている。本研究では、代表的なマトリセル蛋白の1つであるガレクチン-3に焦点を合わせ、くも膜下出血後の早期脳損傷におけるガレクチン-3の発現機構やその機能的役割を解明し、治療に応用するための可能性につき探求する。ガレクチン-3はマトリセル蛋白の1つで、アポトーシスや炎症における信号伝達に関与するとされているが、SAHにおける意義は未だ明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

くも膜下出血後の早期脳損傷には神経細胞のアポトーシスや血液脳関門障害による脳浮腫が重要な役割を果たすことが知られている。そこで、本研究ではくも膜下出血後の脳においてガレクチン-3が発現し、これが血液脳関門障害を誘導することを調べ、またガレクチン-3を抑制すると血液脳関門障害が抑制され、神経症状の悪化を防ぐこと、またその情報伝達機構を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

ガレクチン-3のインヒビターである modified citrus pectin(MCP)がSAH後の早期脳損傷を抑制するかについて検討した。SAHはオスの野生型マウスの左内頸動脈先端部を4-0ナイロン糸にて血管内より穿通させることにより作成した。Vehicle及びMCPはSAH作成後30分で脳室内より投与した。

(1) 251匹の野生型(C57BL/6)マウスをランダムに sham+vehicle 群、SAH+vehicle 群及び SAH+MCP 群(0.8ug, 4ug, 16ug, 32ug)に分け、神経学的スコア、SAH重症度、脳含水量、脳内タンパク質発現について調べた。

(2) SAH+vehicle 群及び SAH+MCP 群(4ug)においてモデル作成24時間後の Evans blue 漏出及び神経症状について調べた。

(3) SAH+vehicle 群及び SAH+MCP 群において vehicle または精製ガレクチン-3を投与しモデル作成24時間後の Evans blue 血管外漏出及び神経症状について調べた。

(4) SAH+MCP 群において vehicle または精製ガレクチン-3を投与しモデル作成24時間後の IgG 免疫染色及び神経症状について調べた。

### 4. 研究成果

(1) SAHにより神経症状の悪化、脳浮腫、ガレクチン-3・TLR-4・STAT-3・MMP-9の発現亢進、ZO-1の発現低下が認められ、MCPによりこれらが有意に抑制された。

(2) SAH+MCP 群において Evans blue 血管外漏出と神経症状の悪化が有意に抑制された。

(3) SAH+MCP 群において精製ガレクチン-3の投与は vehicle 投与群に比べ Evans blue 血管外漏出が有意に増加し及び神経症状が有意に悪化した。

(4) SAH+MCP 群において精製ガレクチン-3の投与はモデル作成24時間後の IgG 光学濃度が有意に増加した。

研究成果のまとめ：SAHにより脳内毛細血管においてガレクチン-3の発現が亢進し、これがTLR-4の発現亢進を起し、TLR-4に結合することでERK1/2, STAT-3が活性化される。これによりMMP-9の発現が亢進し、血液脳関門障害・神経症状の悪化が引き起こされた。MCPはガレクチン-3を抑制し、SAHによる神経症状の悪化、血液脳関門障害を抑制した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nishikawa H, Nakatsuka Y, Shiba M, Kawakita F, Fujimoto M, Suzuki H; pSEED group.	4. 巻 9
2. 論文標題 Increased Plasma Galectin-3 Preceding the Development of Delayed Cerebral Infarction and Eventual Poor Outcome in Non-Severe Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transl Stroke Res.	6. 最初と最後の頁 110-119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12975-017-0564-0. Epub 2017 Aug 22.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nishikawa H, Suzuki H.	4. 巻 8
2. 論文標題 Possible Role of Inflammation and Galectin-3 in Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Brain Sci.	6. 最初と最後の頁 E30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/brainsci8020030. Review	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki H, Nishikawa H, Kawakita F.	4. 巻 13
2. 論文標題 Matricellular proteins as possible biomarkers for early brain injury after aneurysmal subarachnoid hemorrhage.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neural Regen Res	6. 最初と最後の頁 1175-1178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4103/1673-5374.235022. Review.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nishikawa H, Liu L, Nakano F, Kawakita F, Kanamaru H, Nakatsuka Y, Okada T, Suzuki H.	4. 巻 49
2. 論文標題 Modified Citrus Pectin Prevents Blood-Brain Barrier Disruption in Mouse Subarachnoid Hemorrhage by Inhibiting Galectin-3.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stroke	6. 最初と最後の頁 2743-2751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/STROKEAHA.118.021757.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 西川拓文、中塚慶徳、川北文博、藤本昌志、芝 真人、鈴木秀謙、pSEEDグループ.	4. 巻 33
2. 論文標題 くも膜下出血患者における急性期血漿中ガレクチン-3濃度とその意義	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 脳血管學縮	6. 最初と最後の頁 31-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 鈴木秀謙、芝 真人、中塚慶徳、中野英美、西川拓文、Liu Lei	4. 巻 33
2. 論文標題 Matricellular proteinとくも膜下出血後delayed cerebral ischemia	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 脳血管學縮	6. 最初と最後の頁 13-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishikawa H, Nakano F, Liu L, Nakatsuka Y, Okada T, Shiba M, Suzuki H	4. 巻 127
2. 論文標題 The Role of Galectin-3 in Subarachnoid Hemorrhage: A Preliminary Study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neurochir Suppl	6. 最初と最後の頁 65-68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-04615-6_11.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakano F, Liu L, Kawakita F, Kanamaru H, Nakatsuka Y, Nishikawa H, Okada T, Shiba M, Suzuki H.	4. 巻 67
2. 論文標題 Morphological Characteristics of Neuronal Death After Experimental Subarachnoid Hemorrhage in Mice Using Double Immunoenzymatic Technique.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Histochem Cytochem	6. 最初と最後の頁 919-930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1369/0022155419878181	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki H, Fujimoto M, Kawakita F, Liu L, Nakano F, Nishikawa H, Okada T, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Shiba M.	4. 巻 127
2. 論文標題 Toll-Like Receptor 4 and Tenascin-C Signaling in Cerebral Vasospasm and Brain Injuries After Subarachnoid Hemorrhage.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neurochir Suppl	6. 最初と最後の頁 91-96
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-04615-6_15	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okada T, Lei L, Nishikawa H, Nakano F, Nakatsuka Y, Suzuki H.	4. 巻 127
2. 論文標題 TAK-242, Toll-Like Receptor 4 Antagonist, Attenuates Brain Edema in Subarachnoid Hemorrhage Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neurochir Suppl	6. 最初と最後の頁 77-81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-04615-6_13.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakano F, Kawakita F, Liu L, Nakatsuka Y, Nishikawa H, Okada T, Shiba M, Suzuki H.	4. 巻 127
2. 論文標題 Link Between Receptors That Engage in Developing Vasospasm After Subarachnoid Hemorrhage in Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neurochir Suppl	6. 最初と最後の頁 55-58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-04615-6_9.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakano F, Liu L, Kawakita F, Nakatsuka Y, Nishikawa H, Okada T, Shiba M, Suzuki H.	4. 巻 127
2. 論文標題 Possible Involvement of Caspase-Independent Pathway in Neuronal Death After Subarachnoid Hemorrhage in Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neurochir Suppl	6. 最初と最後の頁 43-46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-04615-6_7.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakano F, Kawakita F, Liu L, Nakatsuka Y, Nishikawa H, Okada T, Kanamaru H, Pak S, Shiba M, Suzuki H.	4. 巻 56
2. 論文標題 Anti-vasospastic Effects of Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitors After Subarachnoid Hemorrhage in Mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol Neurobiol	6. 最初と最後の頁 4730-4740
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12035-018-1400-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki H, Fujimoto M, Kawakita F, Liu L, Nakatsuka Y, Nakano F, Nishikawa H, Okada T, Kanamaru H, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Shiba M.	4. 巻 98
2. 論文標題 Tenascin-C in brain injuries and edema after subarachnoid hemorrhage: Findings from basic and clinical studies.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Neurosci Res	6. 最初と最後の頁 42-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jnr.24330.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okada T, Kawakita F, Nishikawa H, Nakano F, Liu L, Suzuki H.	4. 巻 56
2. 論文標題 Selective Toll-Like Receptor 4 Antagonists Prevent Acute Blood-Brain Barrier Disruption After Subarachnoid Hemorrhage in Mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol Neurobiol	6. 最初と最後の頁 976-985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12035-018-1145-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shiba M, Ishida F, Miya F, Araki T, Mase M, Kurita H, Kasuya H, Yamamoto T, Kato Y, Iwabuchi S, Suzuki H; CFD3 Study Group.	4. 巻 127
2. 論文標題 Role of Computational Fluid Dynamics for Predicting Delayed Cerebral Ischemia After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Study Protocol for a Multicenter Prospective Study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neurochir Suppl	6. 最初と最後の頁 161-164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-04615-6_24.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shiba M, Suzuki H.	4. 巻 14
2. 論文標題 Lessons from tenascin-C knockout mice and potential clinical application to subarachnoid hemorrhage.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neural Regen Res	6. 最初と最後の頁 262-264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4103/1673-5374.244789.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki H, Nakatsuka Y, Yasuda R, Shiba M, Miura Y, Terashima M, Suzuki Y, Hakozaki K, Goto F, Toma N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Dose-Dependent Inhibitory Effects of Cilostazol on Delayed Cerebral Infarction After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Transl Stroke Res	6. 最初と最後の頁 381-388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12975-018-0650-y.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Hirofumi Nishikawa, Fumi Nakano, Lei Liu, Yoshinari Nakatsuka, Takeshi Okada, Masato Shiba, Hidenori Suzuki.
2. 発表標題 The Role of Galectin-3 In Brain Injuries After Subarachnoid Hemorrhage In Mice
3. 学会等名 The 14th International Conference on Neurovascular Events after Subarachnoid Hemorrhage (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西川拓文、中野英美、Liu Lei、中塚慶徳、岡田 健、 芝 真人、鈴木秀謙
2. 発表標題 マウスくも膜下出血後脳損傷におけるガレクチン- 3の役割
3. 学会等名 第34回スバズム・シンポジウム
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 西川拓文、中野芙美、Liu Lei、中塚慶徳、岡田 健、 芝 真人、鈴木秀謙
2. 発表標題 マウスくも膜下出血後脳損傷におけるガレクチン-3の役割
3. 学会等名 第49回日本結合組織学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hidenori Suzuki, Fumihiro Kawakita, Fumi Nakano, Hideki Kanamaru, Masato Shiba
2. 発表標題 Neuroinflammation as a target for intervention in subarachnoid hemorrhage
3. 学会等名 5th International Conference on Subarachnoid Hemorrhage, Amsterdam (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fumi Nakano, Hirofumi Nishikawa, Yoshinari Nakatsuka, Fumihiro Kawakita, Hideki Kanamaru, Takeshi Okada, Masato Shiba, Hidenori Suzuki
2. 発表標題 Significance of tenascin-C expression in an acute phase of subarachnoid hemorrhage
3. 学会等名 5th International Conference on Subarachnoid Hemorrhage, Amsterdam (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hideki Kanamaru, Fumihiro Kawakita, Fumi Nakano, Yoichi Miura, Masato Shiba, Ryuta Yasuda, Naoki Toma, Hidenori Suzuki
2. 発表標題 Comparison of prognostic factors between the elderly over age 75 and the non-elderly treated with acute-stage obliteration for ruptured cerebral aneurysm
3. 学会等名 5th International Conference on Subarachnoid Hemorrhage, Amsterdam (国際学会)
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Masato Shiba, Fujimaro Ishida, Masanori Tsuji, Hidenori Suzuki
2 . 発表標題 Computational fluid dynamics for predicting the recurrence of unruptured cerebral aneurysm after stent-assisted coil embolization
3 . 学会等名 5th International Conference on Subarachnoid Hemorrhage, Amsterdam ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Fumi Nakano, Hirofumi Nishikawa, Yoshinari Nakatsuka, Fumihiro Kawakita, Hideki Kanamaru, Takeshi Okada, Masato Shiba, Hidenori Suzuki
2 . 発表標題 Possible role of matricellular protein tenascin-C after subarachnoid hemorrhage: clinical and experimental studies
3 . 学会等名 BRAIN & BRAIN PET 2019, Yokohama ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Masato Shiba, Masashi Fujimoto, Naoki Toma, Yoichi Miura, Fumihiro Kawakita, Yume Suzuki, Yusuke Kuroda, Munenari Ikezawa, Reona Asada, Hideki Kanamaru, Hidenori Suzuki
2 . 発表標題 Tenascin-C: A Novel Therapeutic Target in Subarachnoid Hemorrhage
3 . 学会等名 International Stroke Conference 2020, Los Angeles ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Masato Shiba, Yoichi Miura, Ryuta Yasuda, Naoki Toma, and Hidenori Suzuki
2 . 発表標題 Dose-dependent impact of cilostazol on plasma tenascin-C and delayed cerebral infarction after aneurysmal subarachnoid hemorrhage
3 . 学会等名 The 14th Japanese and Korean Joint Conference on Surgery for Cerebral Stroke ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

三重大学大学院 脳神経外科学の研究実績  
<http://www.medic.mie-u.ac.jp/neurosurgery/research/results/index.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----