

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16658

研究課題名(和文)EPA・DHA、スタチンの脳静脈灌流障害による脳梗塞進展抑制効果の検討

研究課題名(英文)Effect of statin for the suppression of cerebral venous infarction.

研究代表者

輪島 大介(WAJIMA, DAISUKE)

奈良県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：10790149

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：8週齢のMale Wistar ratを搬入し、Control群=CE-2(飼育繁殖用)、Statin群=CE-2+Pravastatin(1%)を用いて、各々2週間飼育し体重の推移およびStatin群のStatin摂取量を測定し、脳皮質静脈2本閉塞モデルを用いて脳静脈梗塞を作成し、48時間後にsacrificeし梗塞病変を病理評価を行った。HE染色にて、静脈梗塞体積がStatin群ではControl群に比べて有意に抑制された。(Control群(n=15) vs Statin群(n=17)： $9.8 \pm 3.6\%$ vs $6.3 \pm 4.1\%$ ($p=0.022$))。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳皮質静脈閉塞モデルを用いたラットの実験を行った。スタチン前投与したラットにおいて、コントロール群と比較して脳静脈梗塞病変がHE染色評価により梗塞病変の縮小が示された。スタチン前投与により脳静脈梗塞が縮小する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the effect of statin for the suppression of cerebral venous infarction by rat cerebral venous disturbance model. 8-weeks-male rats were used for this experiment (Control group(CE-2 diet only) vs Statin group(CE-2+Pravastatin(1%) fed for 2 weeks). Rats were sacrificed after 48 hours of cerebral venous disturbance model operation, and evaluated the cerebral venous infarction volume by HE staining. We confirmed the smaller volume of cerebral venous infarction in the statin group (Control group (n=15) vs Statin group (n=17) : $9.8 \pm 3.6\%$ vs $6.3 \pm 4.1\%$ ($p=0.022$)).

研究分野：cerebral circulation disturbance

キーワード：venous infarction statin

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

画像診断の進歩に伴い静脈洞閉塞症や脳皮質静脈血栓症などの外科的操作に依らない脳静脈灌流障害の報告が増加している。しかし脳静脈梗塞に関しては基礎・臨床的研究が進んでいないのが現状である。

申請者の所属する研究室では脳静脈灌流障害の病態モデルに取り組み、「光感受性色素を用いたラット脳皮質静脈閉塞モデル」を作成し脳皮質静脈を閉塞できるモデルとして脳静脈灌流障害の研究を行ってきた(Nakase H et al. Neurosurgery 1995)。このモデルでは1本の脳皮質静脈を閉塞すると30%程度の脳静脈梗塞が起こり、2本閉塞すると90%程度の脳静脈梗塞が起こる。そのため1本閉塞モデルは脳静脈梗塞の起こる過程や一定の負荷(脳圧迫、加齢、血圧低下など)を加えることによる変化を調べるのに適したモデルであり、2本閉塞モデルは薬剤の効果を調べるのに適したモデルと考えられている。

病態の研究結果として、脳静脈梗塞は脳動脈梗塞と比較して極めてゆっくりと進行し静脈血栓の二次的進展が梗塞巣を大きくすることに関与すること(Nishioka T et al. J Neurosurg 2006)(図B)、無症候性の脳静脈灌流障害下では脳血管反応性の低下がみられること(Nakase H et al. J Neurosurg 1998)、高齢動物の脳微小血管は脆弱で静脈閉塞による静脈梗塞の発生頻度は加齢とともに高率となり梗塞巣は拡大すること(Otsuka H et al. J Neurosurg 2000)、肥満2型糖尿病モデルラットでは正常ラットに比べて静脈梗塞が拡大すること(Wajima D et al. Brain Res 2010)を報告した。

今回の研究計画を進める上で申請者らは次のような予備的な研究結果を得ている。脳静脈灌流障害に対する治療に関する研究結果として、脳動脈梗塞では大きな梗塞巣の周辺にわずかに虚血性神経組織半影様(penumbra-like)領域を認めるが脳静脈梗塞では小さな梗塞巣周辺に大きな penumbra-like、edema、apoptosis の領域を認めるため、この領域を治療ターゲットとした研究を行った。静脈梗塞後24時間以内にVEGF中和抗体を投与すると梗塞巣縮小効果があるが48時間以降では無効であること(Kimura R et al. Stroke 2005)、正常ラット・肥満2型糖尿病ラットにおいてcilostazol投与により静脈梗塞巣縮小効果を認めること(Wajima D et al. J Cereb Blood Flow Metab 2011)、脳由来神経栄養因子(BDNF)がapoptosisを抑制することで脳静脈梗塞巣を縮小すること(Takeshima Y et al. Neurosurgery 2011)を報告した。

2. 研究の目的

Statin(HMG-CoA還元酵素)はカビの一種から同定された薬剤(Endo A et al. J Antibiot 1976)であり血管弛緩を誘導する遺伝子の誘導、血管収縮遺伝子の抑制に加えて抗凝固活性を有する遺伝子の誘導、炎症性因子、血栓形成促進遺伝子の発現抑制を誘導する pleiotrophic effect を有し、Bax発現抑制効果を介する神経保護効果も報告されている(Jung YS et al. Neurosci Lett. 2015)。またn-3 polyunsaturated fatty acids eicosapentaenoic acid (EPA)、docosahexaenoic acid (DHA)はイヌイット族の採血結果

と急性心筋梗塞、脳卒中、糖尿病などの比率がデンマーク人より低いことが示されて以降 (Bang HO et al. Acta Med Scand 1976)、Statinと同様に、Bcl-2 発現亢進、Bax 発現抑制を介して脳動脈虚血病変の抑制効果が報告 (Ajami M et al. Neurol Sci 2011) され、動脈硬化症の治療薬として広く普及している薬剤である。

動脈性梗塞と同様に静脈灌流障害の悪化抑制に Bcl-2 発現促進、Bax 発現抑制による神経保護効果を介する cilostazol の有効性を示した (Wajima D et al. J Cereb Blood Flow Metab 2011) が cilostazol には出血性副作用があるため、その危険性が低い Statin での静脈梗塞の予防効果が示されれば治療応用の価値が高いと考える。

具体的には脳静脈梗塞、虚血に対する治療、その浮腫性変化に対する治療、さらに 2 次的な脳静脈灌流障害を呈する疾患 (脳腫瘍、開頭手術後の脳浮腫など) に対する治療への応用が期待できる。

3. 研究の方法

Wister ラットに Statin または EPA・DHA を投与する群、薬剤非投与群を作成する

14 週齢雄 Wister ラットを奈良県立医科大学動物実験施設に搬入し、1.2. の課題とともに薬剤使用群 (n=20) と薬剤不使用群 (n=20) に分けてモデルを作成する。薬剤は **Pravastatin (1mg/kg)** を餌内に混入し 2 週間飼育する。

薬剤投与群と薬剤非投与群の両者ともに脳皮質静脈閉塞モデルを作成する

脳皮質静脈閉塞モデル作成

2本の隣接する脳皮質静脈を「光感受性色素を用いたラット脳皮質静脈閉塞モデル」によって閉塞させ、脳静脈閉塞モデルを作成する。抱水クロラール (**36 mg/100 g body weight**) にて麻酔し、気管挿管を行い人工呼吸を行う。右大腿静脈に静脈ルートを確認する。尾動脈に動脈ラインを確認しモニタリングを行う。頭部を固定し、腹臥位にて左頭頂開頭を行い、**Rose bengal (50 mg/kg)** を静脈注射し、**(L4887 fiberoptic system [6500–7500lux, 540nm]; Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan)** にて隣接する 2本の脳皮質静脈に血栓を作成し静脈閉塞モデルを作成する。

脳皮質静脈閉塞モデル作成後 48 時間に sacrifice し病理標本を作成する

脳皮質静脈閉塞モデル作成 48 時間後に安楽死処置、大脳を灌流固定、ホルマリン処置を施し、ラット脳の病理標本作成を行う。

4. 研究成果

HE 染色にて、脳静脈梗塞体積が Statin 群では Control 群に比べて有意に抑制された (Control 群 (n=15) vs Statin 群 (n=17): $9.8 \pm 3.6\%$ vs $6.3 \pm 4.1\%$ ($p=0.022$))。上記の結果より、プラバスタチン前投与により脳静脈梗塞発生後の梗塞病変進展が抑制される可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤文哉、輪島大介ら
2. 発表標題 Rat two vein occlusion model (2VOモデル) を用いたPravastatinの脳静脈梗塞予防効果の検討
3. 学会等名 日本脳循環代謝学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----