

平成 22 年 5 月 21 日現在

**研究種目**：基礎研究 B  
**研究期間**：2006 ～ 2009  
**課題番号**：18390402  
**研究課題名（和文）**血管新生因子抑制による脳硬膜動静脈瘻の治療に関する研究  
**研究課題名（英文）** Study on the treatment of dural arteriovenous fistula by the inhibition of angiogenic growth factors  
**研究代表者**  
 榊 寿右 (TOSHISUKE SAKAKI)  
 奈良県立医科大学・医学部附属病院・その他  
**研究者番号**：20118029

## 研究成果の概要（和文）：

本研究の目的は、「硬膜動静脈瘻の病因・病態の解明を進展させ、特に抗血管新生因子による治療について」の検討である。今回、脳静脈還流障害における脳由来神経栄養因子 Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) の神経保護作用（脳静脈梗塞縮小ならびにアポトーシス抑制効果）につき検討した。その結果、BDNF 脳室内投与により局所脳血流は影響を受けることなく、脳静脈梗塞は有意に抑制され、その機序の一つとしてアポトーシスの抑制が示唆された。

## 研究成果の概要（英文）：

The precise mechanisms responsible for the development and growth of dural arteriovenous fistula (DAVF) remain unclear, but it has been hypothesized that vascular angiogenic growth factors might be involved in the pathogenesis. Also, it remains unknown that Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) effect on regional Cerebral Blood Flow (rCBF) and has neuroprotective effect in cerebral venous ischemia. The present study was undertaken to investigate whether intraventricular BDNF infusion effects on infarct size and suppression of apoptosis in cerebral venous ischemic lesion in a rat 2-vein occlusion (2-VO) model and effect on rCBF. As the results, there were no statistical differences in rCBF between BDNF-treated and control groups. It was found that the mean infarct volumes after 2-VO were significantly smaller in BDNF-treated animals than controls at 2 days ( $1.49 \pm 1.44\%$  v. s.  $3.66 \pm 1.51\%$ ,  $P < 0.05$ ) and 7 days ( $0.93 \pm 0.47\%$  v. s.  $1.69 \pm 0.58\%$ ,  $P < 0.05$ ). The number of TUNEL positive cells detected at 2 days after 2-VO was significantly fewer in BDNF-treated animals ( $17.0 \pm 15.1$ ) than controls ( $39.0 \pm 19.6$ ,  $P < 0.05$ ). These results suggest that continuous intraventricular administration of BDNF protects apoptotic change of brain cortex and reduced infarct size without effect on rCBF in rat venous infarction model.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	9,800,000	2,058,000	11,858,000
2007 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
総計	14,800,000	3,558,000	18,358,000

研究分野：脳神経外科

科費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：脳硬膜動静脈瘻・脳虚血・静脈梗塞・血管新生因子・遺伝子治療

### 1. 研究開始当初の背景

脳静脈滯留障害の病態の研究は非常に遅れた分野で、その報告も少なく、取り組んでいる施設も教えるほどしかない。我々は、これまで脳静脈滯留障害の病態の研究と治療法の開発の検討を継続的に行ってきた。硬膜動静脈瘻 (DAVF) は、動静脈瘻シャントによる静脈亢進のための虚血症状や出血があり、意識障害、歩行障害、痴呆、耳鳴りなど多彩な症状を引き起こし、時に難治性で治療のために病態の解明が求められている疾患であるが、その成因、病態については未だ十分に解明されていない。近年、臨床例の検討から主な要因は静脈洞血栓症と静脈圧亢進状態と考えられ、血管新生因子との関わりが注目されている。しかし、臨床例の検討では DAVF の自然経過の一時期しか見ることができず、病変発生の前段階の病態を明らかにするため、ラット DAVF モデルを用いて慢性脳静脈圧亢進状態から硬膜動静脈瘻が発生する際の血管新生因子 (VEGF) の発現を調べ、DAVF の成因を検討した。慢性脳静脈圧亢進モデルから実験的に硬膜動静脈奇形を発生させ、静脈洞内圧亢進状態が慢性的に持続することにより硬膜動静脈瘻が形成されることを血管撮影で形態学的に評価し、同部位での血管新生因子である血管新生因子 (VEGF) の発現を確認した。VEGF が病的な血管新生を促進し、硬膜動静脈瘻の発生に関わるものと推察された。硬膜動静脈瘻の治療への応用を視野にいたした知見であり、今後は硬膜動静脈瘻の治療への応用を視野に入れた研究を進める予

定である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、「硬膜動静脈瘻の病因・病態の解明を進展させ、特に抗血管新生因子による治療について」の検討である。今回、脳静脈還流障害における脳由来神経栄養因子 Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) の神経保護作用 (脳静脈梗塞縮小ならびにアポトーシス抑制効果) につき検討した。

### 3. 研究の方法

Wister Rat (オス・250g 前後) を包水クロラール腹腔内投与で麻酔。気管内挿管し、人工呼吸器にて呼吸管理を行う。隣接する脳皮質静脈を光凝固法にて閉塞ローズベンガル溶液 (50mg/kg) を静脈内投与し光照射 (540nm) し、ラット脳静脈虚血モデルを用いて、BDNF 投与群 (A 群) と control 群 (B 群) に分ける。腹腔内、大腿静脈内、尾動脈内に tube を留置。Stereotactic frame にラット頭部を固定。開創し、burrhole を作成 (bregma の 1.6mm 外側・0.8mm 尾側)。Osmic mini pump を用いて、A 群では BDNF (合計 30  $\mu$ g) を、B 群では PBS のみを最大 7 日間持続脳室内投与した。終了後に閉創し抜管。以下の検討を行った。① 2-V0 の 48 時間後に TUNEL 染色で評価 ② 2-V0 の 7 日後に HE 染色で梗塞巣の大きさを検討した。

#### 4. 研究成果

2-V0の48時間後にTUNEL染色で評価では、BDNF脳室内投与は、局所CBFや生理学的dataに影響を与えなかった。2-V0の7日後にHE染色で梗塞巣の大きさを検討では、BDNF投与により、2-V07日後の静脈梗塞巣は有意に縮小した(図1)。また、2-V048時間後のTUNEL陽性細胞数は有意に減少した(図2)。これまでの結果から、脳静脈圧亢進状態により虚血に陥った組織近傍に血管新生因子が発現しDAVFが発生することが考えられ、本研究で得られた知見から、血管新生因子に注目したDAVF治療および慢性脳虚血に対する治療への応用が期待される。

#### 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1件)

- ① S hin Y, Nakase H, Nakamura M, Shimada K, Konishi N, Sakaki T :  
Expression of angiogenic growth factor in the rat DAVF model.  
Neurol Res, 29(7):727-33, 2007

[学会発表] (計7件)

- ① 堀内薫, 中瀬裕之, 田村健太郎, 竹島靖浩, 三宅仁, 榑寿右, LV Q., Heimann A., Li H., Kempinski O. :  
Stroke2009 2009.03.22 松江
- ② 堀内薫, 三宅仁, 竹島靖浩, 乾登史孝, 田村健太郎, 平林秀裕, 中瀬裕之, 榑寿右 :  
ペナンプラ領域でのシロスタゾール投

与における梗塞巣及びアポトーシス発現に与える影響について

第20回日本脳循環代謝学会総会

2008.11.7 東京

- ③ 竹島靖浩, 中瀬裕之, 木村僚太, 三宅仁, 堀内薫, 榑寿右 :

ラット脳静脈虚血モデルを用いた脳虚血 penumbra の基礎的研究～ 脳由来神経栄養因子の脳保護効果を中心に～

第20回日本脳循環代謝学会総会

2008.11.6 東京

- ④ 竹島靖浩, 中瀬裕之, 西岡利和, 玉置亮, 乾登史孝, 三宅仁, 平林秀裕, 榑寿右 :

ラット脳静脈虚血モデルにおけるBDNFの神経保護作用について

第19回日本脳循環代謝学会総会

2007.10.25 盛岡

- ⑤ 竹島靖浩, 中瀬裕之, 西岡利和, 田村健太郎, 玉置亮, 乾登史孝, 三宅仁, 堀内薫, 榑寿右 :

ラット脳静脈虚血モデルにおけるBDNFの神経保護作用について

第66回日本脳神経外科学会総会

2007.10.3 東京

- ⑥ 竹島靖浩, 中瀬裕之, 西岡利和, 田村健太郎, 玉置亮, 乾登史孝, 三宅仁, 堀内薫, 榑寿右 :

ラット脳静脈虚血モデルにおけるBDNFの梗塞巣縮小効果

第32回日本脳卒中学会総会

2007.3.23 福岡

研究者番号：

- ⑦ 堀内薫, 西岡利和, 木村僚太, 田村健太郎,  
玉置亮, 乾登史孝, 竹島靖浩, 三宅仁, 中  
瀬裕之, 榑寿右 :

第 32 回日本脳卒中学会総会

2007.3.23 福岡

[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◇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

榑 寿右 (TOSHISUKE SAKAKI)

奈良県立医科大学・医学部附属病院・そ  
の他

研究者番号：20118029

### (2) 研究分担者

中瀬裕之 (HIROYUKI NAKASE)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：20118029

### (3) 連携研究者

( )