

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K08947

研究課題名(和文) リポカリン型プロスタグランジンD合成酵素からみた髄液リンパ系ドレナージの検討

研究課題名(英文) Analysis of CSF lymphatic drainage system using Lipokalin-type PGDS

研究代表者

間瀬 光人 (Mase, Mitsuhiro)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授

研究者番号：60238920

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：リポカリン型プロスタグランジンD合成酵素(L-PGDS)は髄液中の輸送蛋白で、くも膜下出血患者ではヘモグロビンの代謝産物であるビリベルジンをスカベンジしている。本研究の目的はその排泄経路をマウスおよびヒトで明らかにすることである。しかしマウスくも膜下出血モデルは生存率が極めて低く、未だ十分なサンプルが得られていない。研究は継続して遂行する予定である。

ヒト正常コントロールのリンパ系ドレナージを確かめるため、¹⁵Oでラベルした水PETによる検討を追加で行った。その結果、水分子のくも膜下腔へのきわめて速い移動が明らかとなるとともに、脳幹からくも膜下腔への水分子動態は他部位とは異なることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

くも膜下出血モデルにおけるリンパ系ドレナージの経路はヒト、マウスともに明らかにすることはできなかった。しかし並行して行ったヒトの水PET解析では、髄液中への水分子のきわめて速い移行が明らかとした。さらに脳底槽の水分子は脳表や脳室から来たものでもなく、脳幹あるいは他の部位から(たとえば脊髄腔)から直接由来することが示唆された。これは新しい知見で、髄液生理学に大きな影響を与える。

研究成果の概要(英文)：Lipokalin-type Prostaglandin D synthase (L-PGDS) is known to be a carrier protein in cerebrospinal fluid (CSF), which scavenges biliverdin (metabolites of hemoglobin) in patients with subarachnoid hemorrhage (SAH). The purpose of this study is to clarify the drainage route of the system from CSF to extracranial regions in mice and human by using L-PGDS as an internal tracer. However, it is very difficult to make mice SAH model because of high mortality. It is a pity that we have not obtained enough experimental data. The study is on-going. We also analyzed H215O dynamic PET in human to clarify water turnover in brain and CSF. The second study showed very fast movement of water molecules from artery to brain parenchyma and CSF. Interestingly, water in basal cisterns was faster than cortical subarachnoid space or ventricles, suggesting that brain stem may have a unique role for water supply into CSF.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：くも膜下出血 プロスタグランジンD合成酵素 髄液 リンパ系ドレナージ 脳血管攣縮

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

リポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素(L-PGDS, 分子量 23,000)は トレースとも呼ばれ、脳脊髄液中に高濃度(髄液中総蛋白質の 6-10%)に存在する蛋白で、プロスタグランジン D₂(PGD₂)産生や疎水性生理活性物質を結合する輸送蛋白質として機能している。われわれはL-PGDS がくも膜下出血患者の髄液中で増加し(Mase,1999)、血腫代謝産物のピリベルジンと結合することを報告した(Inui, 2014)。イヌの実験では髄液中に投与したL-PGDS は血中に移行し、さらに尿中に排泄された(Li, 2008)。すなわちL-PGDS はくも膜下出血においては、神経毒性のあるピリベルジンに結合することで不活化し、さらに結合したまま髄液腔外へ排出する輸送蛋白であることが明らかとなった。しかし尿中排泄量は約 20%で、残りの 80%の行方は不明であった。そのときは想定していなかったが、リンパ系ドレナージ(血管周囲腔および脳神経周囲腔から頸部リンパ節、脊髄神経根から傍椎骨リンパ節)の関与を考えるに至った。

リンパ系ドレナージは脳および髄液腔内の高分子代謝産物の排泄を担うとされているが、ヒトで証明された訳ではない。またヒトのリンパ系ドレナージの詳細を明らかにすることは、脳内および髄液中の高分子老廃物の排せつ障害や蓄積によって引き起こされる種々の疾患、脳の老化や認知症の病態に深く関与する可能性があり、きわめて重要な課題である。

しかしながらヒトにおいて髄液中の高分子物質のリンパ系ドレナージへの排泄を観察できるような生理的内因性トレーサーとして報告されたものはない。

2. 研究の目的

本研究ではL-PGDS を内因性トレーサーとして髄液中高分子蛋白排泄経路、すなわちリンパ系ドレナージの存在をラットおよびヒトで証明するのが目的である。また本研究では正常のみならずくも膜下出血(ピリベルジンと結合したL-PGDS をトレーサーにする)で検討することにより、くも膜下腔に排泄すべき高分子物質が大量に発生した場合の生理的反応を観察することができる。すなわちくも膜下血腫の排泄という場面でリンパ系ドレナージの役割を直接検討することになり、これまで誰も観察した報告はない。

3. 研究の方法

(1) マウス実験

正常例、くも膜下出血モデル(穿通モデル)(day 1,3,7)の頸部リンパ節を摘出し、L-PGDS 染色を行う。これによりマウスのリンパ系ドレナージの経路である頸部リンパ節でL-PGDS がトレーサーとして検出できるか、さらにくも膜下血腫の排泄に関与しているかを明らかにする。

(2) くも膜下出血患者

くも膜下出血患者から採取した、髄液、尿、血中濃度から推定したL-PGDS 総量測定(ELIZA)(day 1,3,5,7,11,14)を行い、髄液排出(吸収)におけるリンパ系ドレナージの占める割合を推定する。

(3) ヒト¹⁵⁰ dynamic PET study

10人の成人正常ボランティア(62.0 ± 7.6才, M:F = 4:5)に、H₂¹⁵⁰を含む生理食塩水5mlを静脈内にbolus投与し、12.5分間にわたりdynamic PET (Siemens Biograph mCT40)データを収集した。関心領域は内頸動脈、上矢状洞、脈絡叢、大脳基底核、大脳皮質灰白質、大脳白質、側脳室、シルビウス裂、橋前槽に置いた。減衰補正を行った相対的放射線活性(relative radio activity: RRA)の経時的変化を検討した。

4. 研究成果

(1) マウス実験

くも膜下出血モデルの作成は報告されているように穿通法で行ったが、非常に侵襲性の高いモデルで、高い致死率となり、有効なサンプルを得るには至っていない。

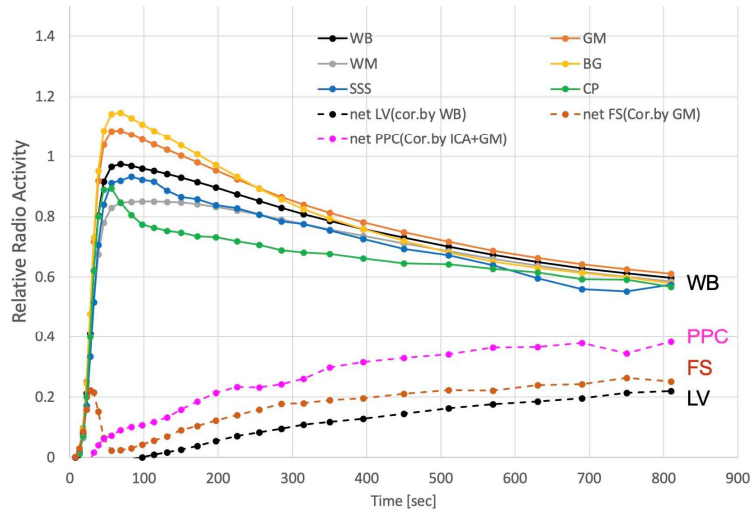
(2) くも膜下出血患者

マウス実験を先行させてから実験に入る予定であり、また施行していない。

(3) ヒト¹⁵⁰ dynamic PET study

水分子のくも膜下腔(髄液)へのきわめて速い移行が明らかとなるとともに、脳表、脳底槽の水分子は脳室内の脈絡叢由来ではなく、かつ脳幹からくも膜下腔への水分子動態は他部位とは異なること(最も大きい可能性)が明らかとなった。

RRA changes of CSF space



5. まとめ

本研究はコロナの影響もあってなかなか実験が開始できず、3年間の延長をもってしても完遂することはできなかった。現在、マウスくも膜下出血モデルの実験は継続して行っており、結果を公表できるように研究を遂行する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 間瀬光人
2. 発表標題 特発性正常圧水頭症患者における頭蓋内水分子の動きに関する研究 . Dynamic PET study
3. 学会等名 第20回日本正常圧水頭症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 間瀬光人
2. 発表標題 脳脊髄液動態画像
3. 学会等名 第42回日本脳神経CI学会総会 . CI2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mitsuhito Mase
2. 発表標題 A Perspective Presentation and Tweet for Mechanism Causing Symptoms of iNPH.
3. 学会等名 Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mitsuhito Mase
2. 発表標題 Water turnover in brain tissue and CSF spaces in normal volunteers and patients with idiopathic NPH: Dynamic PET study
3. 学会等名 17th International Symposium on Intracranial Pressure and Neuromonitoring (ICP 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mitsuhito Mase
2. 発表標題 Difference of water turnover in brain tissue and CSF spaces between normal volunteers and patients with idiopathic NPH: Dynamic PET study using H2150
3. 学会等名 The 11th Meeting of the International Society for Hydrocephalus and Cerebrospinal Fluid Disorders (Hydrocephalus 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 間瀬光人
2. 発表標題 水のターンオーバーからみた正常および特発性正常圧水頭症の髄液リンパ系ドレナージ.
3. 学会等名 一般社団法人・日本脳神経外科学会第78回学術総会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 間瀬光人
2. 発表標題 特発性正常圧水頭症の頭蓋内水分子のターンオーバーとリンパ系ドレナージ
3. 学会等名 第12回日本水頭症脳脊髄液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mitsuhito Mase
2. 発表標題 etection of the rupture-site causing subarachnoid hemorrhage with multiple cerebral aneurysms using MRI
3. 学会等名 5th CVD live ACNS Winter Seminar (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mitsuhito Mase
2. 発表標題 Turnover of water molecules in brain, ventricles and subarachnoid spaces in normal volunteers and patients with idiopathic NPH: dynamic PET study using H2150
3. 学会等名 The tenth Meeting of the International Society for Hydrocephalus and Cerebrospinal Fluid Disorders (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mitsuhito Mase
2. 発表標題 CSF physiology Update (CSF does not circulate anymore)
3. 学会等名 Nagoya Shanghai Neurosurgical Forum (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mitsuhito Mase
2. 発表標題 CSF physiology based on turnover of water molecules / Dynamic PET study
3. 学会等名 JSMRM2018 第46回日本核磁気共鳴医学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 間瀬光人
2. 発表標題 正常例と特発性正常圧水頭症の脳実質，脳室，くも膜下腔における水のターンオーバー：Dynamic PET study
3. 学会等名 第77回日本脳神経外科学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mitsuhito Mase
2. 発表標題 CSF Dynamics Update (CSF does not circulate anymore)
3. 学会等名 2018 ISMINS-keyhole conference. NPH Summit 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018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
研究分担者	山中 智康 (Yamanaka Tomoyasu) (20865133)	名古屋市立大学・薬学総合研究院(医学)・助教 (23903)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------