

令和 4 年 6 月 19 日現在

機関番号：32653  
研究種目：若手研究  
研究期間：2018～2021  
課題番号：18K15469  
研究課題名（和文）虚血性脳血管障害に対するペマフィブラートの効果

研究課題名（英文）Effects of pemafibrate on ischemic stroke

研究代表者

星野 岳郎（Hoshino, Takao）

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：30724679

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）：マウス急性脳虚血再灌流モデルで、ペマフィブラートが脳梗塞体積、脳梗塞に伴う後遺症状を軽減することを確認した。脳梗塞後の脳組織においてNF- $\kappa$ B、P-p38MAPKの発現がペマフィブラート群でVehicle群と比べて低下しており、炎症性サイトカインとしてIL-1 $\beta$ やTNF $\alpha$ の遺伝子発現が低下している傾向が見られたものの、再現性に乏しく、今後のさらなる検討を要する。また、並行して行った臨床研究では、ペマフィブラートを投与した脳梗塞患者において有意な脂質改善効果、炎症マーカー低下がみられ、論文にて報告した（Hoshino T, et al. J Atheroscler Thromb 2021）。

研究成果の学術的意義や社会的意義

基礎研究では、ペマフィブラートによる急性期脳梗塞の改善効果を示すデータが得られ、その一端が抗炎症効果によるものである可能性が示唆された。現状では脳梗塞に対する脳保護療法や抗炎症治療の有効性は確立していないが、本薬剤が有望な治療となる可能性が示され、今後更なる検討を進める予定である。また臨床研究においては、ペマフィブラート投与により脂質プロファイルが著明に改善したとともに、炎症マーカーの低下も示された。本薬剤が脳梗塞後の残存リスクをさらに低減する新たな予防治療となることに期待が持てる結果であった。

研究成果の概要（英文）：In mice middle cerebral artery occlusion models, pemafibrate significantly reduced the infarct volume and ameliorated functional outcomes. We also found that pemafibrate could reduce the levels of NF- $\kappa$ B, P-p38MAPK, and IL-1 $\beta$  in mice brain tissue, although the reproducibility was questionable. Antiinflammatory effects via PPAR activation in acute brain ischemia await further studies. In clinical studies, pemafibrate significantly reduced serum triglycerides and remnant-like particle cholesterol levels and increased HDL-cholesterol. In addition, significant reductions in ALT,  $\gamma$ -GTP, and IL-6 levels were also observed. To our knowledge, this study was the first report to show the antiinflammatory effects of pemafibrate in a clinical setting. We have published these data in J Atheroscler Thromb 2021.

研究分野：脳神経内科

キーワード：脳梗塞 脂質 炎症 脳保護療法 PPAR

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

高 LDL コレステロール (LDL-C)、低 HDL コレステロール (HDL-C)、高トリグリセライド (TG) 血症で定義される脂質異常症は、確立した脳梗塞の危険因子である。現在高 LDL-C に対しては、HMG-CoA 還元酵素阻害薬 (スタチン) による LDL-C 低下療法が推奨されているが、それだけでは心血管疾患の発症の 2/3 は抑制できていない。すなわち他の脂質のコントロールが不十分な場合、動脈硬化のリスクが残存するため、HDL-C や TG の是正も重要と考えられている。低 HDL-C・高 TG 血症は、「**atherogenic dyslipidemia (動脈硬化原性脂質異常症)**」とも呼ばれ、高 LDL-C 血症とは独立した脳梗塞リスク因子であることが示されている (Amarenco, et al. *Stroke* 2014)。そのため、動脈硬化原性脂質異常症の是正は、残存リスクの低減において一つの有望な選択肢となりうる。

2017 年 7 月、新規高脂血症治療薬 **ペマフィブラート** の製造販売が承認された。ペマフィブラートは、既存のフェノフィブラートと同じく、肝臓などで発現している核内受容体のペルオキシソーム増殖剤活性化レセプター (peroxisome proliferator-activated receptor [PPAR]) を活性化するフィブラート系薬であるが、従来の薬剤とは異なり選択的に PPAR に結合するため、選択的 PPAR モジュレーター (selective PPAR-modulator [SPPARM]) と呼ばれる。ペマフィブラートはリガンド特異的な PPAR の立体構造変化をもたらし、主に肝臓の脂質代謝に関わる遺伝子群の発現を選択的に調節することで、より強力な HDL-C 上昇、TG 低下作用を発揮する。こうした脂質プロファイルの改善は従来の治療では成し得なかったことから、ペマフィブラートを追加投与することで、脳梗塞の残存リスクをさらに低減できることが大いに期待される。また、PPAR 活性化は、leukotriene B4 を介した炎症反応を抑制すること (Devchand, et al. *Nature* 1996) や、老化動物モデルにおいて細胞内 redox のバランスを修復し、NF- $\kappa$ B を解した炎症性サイトカインの産生を抑制する (Poynter, et al. *J Biol Chem* 1998) など、抗炎症効果が報告されている。

こうした PPAR 活性化の持つ多面的効果は、脳虚血病態で惹起される血栓形成傾向、炎症反応、酸化ストレスに対して保護的に働くと考えられるが、これまで基礎的・臨床的検討はほとんどされていない。こうした背景から、ペマフィブラートが新たな脳梗塞治療薬の選択肢となりうるかどうか、脳虚血モデルを用いた実験系、及びヒトを対象とした臨床試験において検討すべく、本研究を計画した。

## 2. 研究の目的

本研究の主たる目的は、**新規脂質異常症治療薬であるペマフィブラートの急性・慢性の虚血性脳障害に対する効果を *in vivo*、*in vitro* の実験系で明らかにすること、2018 年に本薬剤が市販され次第、脳梗塞や脳動脈硬化症、脳深部白質病変を有する患者を対象とした臨床試験を開始し、ペマフィブラートの動脈硬化抑制効果や長期的な脳心血管イベント抑制効果を検証すること、である。**

## 3. 研究の方法

(1) **動物局所脳虚血モデルで、ペマフィブラートが脳梗塞体積、脳出血合併頻度、脳梗塞後遺症に及ぼす影響を検証する。**

急性脳梗塞モデルとして、イソフルレン吸入麻酔下でラットの頸部を正中切開し、頸動脈分岐

部より6-0ナイロン糸を頭蓋内内頸動脈に進め前大脳動脈分岐部まで進めることにより中大脳動脈閉塞を作成する。中大脳動脈閉塞に際しては、動脈圧を観血的にモニターし、虚血領域の脳血流量はレーザードプラ血流計を用いて継続的に計測する。マウスを用いて中大脳動脈閉塞開始直後にペマフィブラート(0.5 mg/kg)または偽薬を経口投与し、中大脳動脈閉塞60分後に血流を再開通する。脳梗塞へのペマフィブラートの効果を検討するため、24時間後の脳MRI画像、48時間後の2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride(TTC)染色による脳梗塞体積、および2週間投与(0.5 mg/kg/day)継続後の死亡率、神経症状(神経スコア、ワイヤーテスト、コーナーテスト、ロータロッドテストなど)を両群間で比較する。

**(2) 動物局所脳虚血モデルで、ペマフィブラートの効果が発揮される分子メカニズムを、免疫組織学的検討、蛋白発現、遺伝子発現の側面から明らかにし、可能な場合は遺伝子改変マウスを用いて検討する。さらに、in vitroで血液脳関門機能への影響を明らかにする。**

上記1でペマフィブラートの有効性が示された実験系を用いて、脳凍結切片を作成し、神経細胞のマーカーMAP2、アストロサイトのマーカーGFAP、血液脳関門(BBB)破綻の指標としてIgGの組織への漏出、活性化ミクログリアのマーカーとしてIba1、酸化ストレスマーカーとして4-HNEや8-OHdGを用いて免疫組織学的検討を行う。またWestern blotting、免疫組織染色を行い炎症関連因子(ICAM1、MPO、MMP9、TNF 等)の発現も定量的に評価する。さらに*Ppar*、およびその活性化に伴う標的遺伝子(*Abca1*、*Abcg1*、*Apoc3*、*Cpt1a*など)の脳、肝における発現量をリアルタイムPCRで測定する。これらをペマフィブラート非投与群と比較し、その効果発現メカニズムを明らかにする

**(3) ヒト脳梗塞例でペマフィブラート群と対照群に割り付け、ランダム化比較パイロット試験を行う。**

脳梗塞発症から1ヶ月以上が経過し状態の安定した患者のうち、アテローム性脂質異常症のある患者をペマフィブラート投与/非投与の2群に無作為に割り付け、2年間追跡する。評価項目は、再発血管イベントの発症、死亡、頸動脈超音波による頸動脈病変の進展度、脳MRI/Aにおける小血管病変(白質病変)及び脳動脈狭窄病変の進展度、血液中の各種脂質・糖・炎症マーカーを予定している。

#### 4. 研究成果

マウス急性脳虚血再灌流モデルで、ペマフィブラート(0.3 mg/kgまたは1.0 mg/kg)または偽薬を経口投与したところ、vehicle群に比べてペマフィブラート投与群では、48時間後の2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride(TTC)染色による脳梗塞体積が有意に縮小していた。神経学的スコアによる神経症状は、vehicle群に比べてペマフィブラート投与群では有意に良好であった。ペマフィブラート低用量投与群と高用量投与群間では有意な差はなかった。ペマフィブラート群、プラセボ群の2群間において、脳梗塞前後の脂質プロファイルの変動に有意な差はなく、脳梗塞後の予後改善効果はペマフィブラートの資質改善効果は寄与していないものと推測された。

ペマフィブラートの抗炎症効果に着目し、脳梗塞後の脳組織において炎症性メディエーターをwestern blotting、免疫組織染色、real-time PCRなどを用いて検討した。その結果、NF- $\kappa$ B、P-p38MAPKの発現がペマフィブラート群でVehicle群と比べて低下する傾向が見られ、炎症性サイトカインとしてIL-1 $\beta$ やTNF $\alpha$ の遺伝子発現が低下している傾向が見られたものの、再現性

に乏しく、今後のさらなる検討を要する。並行して行った臨床研究では、約 110 例の患者登録を行い、現在追跡調査中である。中間解析結果として、ペマフィブラートを投与した脳梗塞患者において有意な脂質改善(中性脂肪低下、レムナント低下、HDL コレステロール上昇)効果、肝機能改善効果、炎症マーカー低下がみられ、論文にて報告した(Hoshino T, et al. J Atheroscler Thromb 2021)。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3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 Hoshino Takao, Ishizuka Kentaro, Toi Sono, Mizuno Takafumi, Nishimura Ayako, Wako Sho, Takahashi Shuntaro, Kitagawa Kazuo	4. 巻 4
2. 論文標題 Prognostic Role of Hypertriglyceridemia in Patients With Stroke of Atherothrombotic Origin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurology	6. 最初と最後の頁 e1660-e1669
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1212/WNL.000000000200112	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 Hoshino Takao, Ishizuka Kentaro, Toi Sono, Mizuno Takafumi, Nishimura Ayako, Takahashi Shuntaro, Wako Sho, Kitagawa Kazuo	4. 巻 53
2. 論文標題 Atherogenic Dyslipidemia and Residual Vascular Risk After Stroke or Transient Ischemic Attack	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Stroke	6. 最初と最後の頁 79-86
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/STROKEAHA.121.034593	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 Hoshino Takao, Ishizuka Kentaro, Toi Sono, Seki Misa, Kitagawa Kazuo	4. 巻 online
2. 論文標題 Effects of Pemafibrate in Patients with Stroke and Hypertriglyceridemia: Baseline Cerebral Artery Diseases and 3-Month Laboratory Outcomes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5551/jat.63036	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 星野岳郎	4. 巻 40
2. 論文標題 esidual risk beyond LDL-C 脳梗塞再発予防とatherogenic dyslipidemia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 カレントセラピー	6. 最初と最後の頁 288-294
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 無
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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 星野岳郎、石塚健太郎、遠井素乃、水野貴文、西村絢子、高橋駿太郎、若生翔、北川一夫
2. 発表標題 アテローム血栓性脳梗塞における高中性脂肪血症の意義
3. 学会等名 第47回日本脳卒中学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野岳郎、石塚健太郎、遠井素乃、水野貴文、西村絢子、高橋駿太郎、若生翔、北川一夫
2. 発表標題 Atherogenic dyslipidemiaは脳梗塞患者の残余リスクと関連する
3. 学会等名 第46回日本脳卒中学会学術集会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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