

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16301

研究課題名（和文）くも膜下出血後の脳損傷に対する5-アミノレブリン酸の治療効果の検討

研究課題名（英文）Investigation of the efficacy of 5-aminolevulinic acid on brain injury after subarachnoid hemorrhage

研究代表者

宮岡 亮（Miyaka, Ryo）

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：80834796

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では、くも膜下出血（SAH）に罹患した患者の神経学的予後の改善を目指した治療応用へと展開することを目的として実施した。5-アミノレブリン酸（5-ALA）が有する抗酸化作用およびミトコンドリア機能増強作用に着目し、SAH後脳損傷への治療効果を検証した。SAH後の長期機能予後に対する治療効果を検証するにあたり、ラット血管内穿刺SAHモデルの重症度を、造影剤を用いたmicro CTによる非侵襲的評価法を確立した。次に、5-ALAが有するSAH後脳損傷に対する治療効果を、病理学および生化学的手法を用いてメカニズム解析を実施し、また神経行動学解析にて長期機能予後における治療効果の検証を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

くも膜下出血後の脳損傷に対する有効な治療法は存在せず、本邦における罹患患者の長期機能予後は、医学が進歩した現代においても未だ改善していない。本研究では、脳神経外科領域において悪性神経膠腫の術中診断等において現在本邦で既に広く用いられている5-ALAが、有する抗酸化作用およびミトコンドリア機能増強作用に着目し、SAH後脳損傷を改善する可能性について検討した。本研究結果を起点として、SAH患者における5-ALAの治療効果が証明されれば、SAH患者の神経学的予後の改善を目指した治療応用へと展開することが可能となり、医療に大きく貢献することができる。

研究成果の概要（英文）：This study aimed at development of therapeutic applications for the neurological prognosis of patients suffering from subarachnoid hemorrhage (SAH). We focused on the antioxidant and mitochondrial function-enhancing effects of 5-aminolevulinic acid (5-ALA), investigated the therapeutic effects of 5-ALA on post SAH brain injury. First, to verify the therapeutic effect on the long-term functional prognosis on SAH animals, we established a non-invasive method for evaluating the severity of SAH in endovascular perforation SAH rats by using micro CT with contrast medium. Second, the therapeutic effects of 5-ALA on post SAH brain injury were analyzed using pathological and biochemical methods, and the therapeutic effects on long-term functional prognosis were verified by neurobehavioral analysis.

研究分野：脳血管障害

キーワード：subarachnoid hemorrhage early brain injury cerebral ischemia 5-aminolevulinic acid mitochondrial function

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

くも膜下出血 (subarachnoid hemorrhage; SAH) 患者の生命予後は、手術や全身管理における医療の進歩により改善してきたが、現在でも発症 30 日までの死亡率は約 35% と高く、また生存例でも 40% 以上は社会復帰に至らない等、未だ予後不良な疾患である。その要因として注目されてきたのが発症直後から生じる急激な頭蓋内圧亢進による一過性全脳虚血を起点とした早期脳損傷 (early brain injury: EBI) であるが、SAH によって生じる脳損傷に対する有効な治療法は、未だ確立されていない。

本研究の着想にあたり我々が着目したのは、移植腎の虚血後再灌傷害 (renal ischemia-reperfusion injury; IRI) に対する 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid: 5-ALA) の改善効果であった (Jiangang H: Am J Physiol Renal Physiol 305: F1149-57, 2013)。報告では、5-ALA が heme oxygenase -1 (HO-1) を介して CO 産生を亢進させることで腎実質動脈の血管拡張を惹起し、さらには ICAM-1, IL-6, iNOS の低下、血小板抑制効果、アポトーシスの抑制などを誘導することにより、IRI による腎機能障害を改善することが示唆されている。この renal IRI は、SAH 直後の頭蓋内圧亢進による全脳虚血から続く脳血流の再開 (虚血後再灌流) によって引き起こされるとされる EBI の概念と、種々のサイトカイン誘導の増加、ROS 産生亢進からシグナル伝達経路を介するアポトーシス、細胞障害という点で類似する病態と考えられた。以上のことから本研究では 5-ALA が SAH 後脳損傷に対し改善効果を示す可能性を検証することを計画した。

2. 研究の目的

本研究では、脳神経外科領域において悪性神経膠腫の術中診断等において現在本邦で既に広く用いられている 5-ALA が、有する抗酸化作用およびミトコンドリア機能増強作用に着目し、SAH 後に発生する early brain injury (EBI) ならびに delayed ischemic neurological deficit (DIND) を改善する可能性について検討し、SAH に罹患した患者の神経学的予後の改善を目指した治療応用へと展開することを目的としている。

3. 研究の方法

本研究で目指す 5-ALA 投与による SAH モデル動物の長期機能予後の改善効果を検証するにあたり、治療ターゲットとなる EBI の病態を忠実に再現することができる Endovascular perforation (EP) 法によるラット穿刺 SAH モデルを SAH 重症度の非侵襲的かつ急性期に評価可能な画像評価法を開発する。具体的には、EP ラット SAH モデルの作成時点での SAH 重症度を評価するため、造影剤を用いた micro CT による評価法を確立し、評価後の長期機能予後の観察を可能にする。

研究課題である 5-ALA による治療効果の検証のため、5-ALA を用いて SAH 発症後の長期予後および神経学的脱落症状にどのような影響を与えるかを重症度評価の上で、脳組織を用いた病理学的および生化学的評価、ビデオモニタリングによる神経行動学解析等を実施し効果の検証を行う。SAH 重症度評価を基に対照群を抽出、SAH 後の神経行動学的異常を primary endpoint に設定し、5-ALA 投与群とコントロール群での比較検討を行う。さらに secondary endpoint (脳浮腫、脳血管攣縮、神経細胞のアポトーシス) の比較を実施する。また、5-ALA の治療効果について、免疫組織学的手法、生化学的手法 (タンパク発現解

析)を用いてその機序を解明する。

4．研究成果

EP ラット SAH モデルにおける重症度を発症時に評価する方法を開発した(特許出願)。画像所見と SAH の重症度との相関性も確認し、評価法として有用であることを原著論文および学会シンポジウム等にて発表した。開発した micro CT を用いた SAH 重症度評価に基づいて対照群を抽出し、5-ALA 投与群とコントロール群での outcome (脳浮腫、脳血管攣縮、神経細胞のアポトーシス、神経行動学的評価など)の比較を実施した。また、5-ALA の治療効果について、免疫組織学的手法、生化学的手法を用いてメカニズム解析を実施した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 MIYAOKA Ryo, YAMAMOTO Junkoh, MIYACHI Hiroshi, SUZUKI Kohei, SAITO Takeshi, NAKANO Yoshiteru	4. 巻 61
2. 論文標題 Intra-arterial Contrast-enhanced Micro-computed Tomography Can Evaluate Intracranial Status in the Ultra-early Phase of Experimental Subarachnoid Hemorrhage in Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurologia medico-chirurgica	6. 最初と最後の頁 721 ~ 730
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2176/nmc.oa.2021-0027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	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 宮岡 亮、宮地裕士、鈴木恒平、齋藤健、中野良昭、山本淳考
2. 発表標題 コンピューター断層撮影法を用いたラットくも膜下出血モデルにおける急性期頭蓋内状態の評価
3. 学会等名 STROKE 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮岡 亮、宮地裕士、山本淳考
2. 発表標題 経動脈的造影マイクロコンピュータ断層撮影法を用いた血管内穿刺くも膜下出血可視化モデルの画像的重症度評価法の有用性について
3. 学会等名 第65回日本脳循環代謝学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 血管内穿孔によるくも膜下出血モデルの血腫を可視化する方法	発明者 宮岡 亮	権利者 産業医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-16882	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------