

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09340

研究課題名(和文) S1PR1シグナル制御による脳血液関門保護を介したくも膜下出血の新規治療法開発

研究課題名(英文) Novel therapeutic approaches for subarachnoid hemorrhage via blood brain barrier protection by S1PR1 signaling pathway

研究代表者

伊藤 明 (Ito, Akira)

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：90867863

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)：本研究は脳血管内皮細胞でのS1PR1シグナルの拮抗でくも膜下出血の転帰を悪化させることを証明した。この知見からS1PR1刺激薬の投与によりくも膜下出血の転機を改善することが予想された。しかし、仮説と異なりS1PR1 agonistであるSEW2871の投与により転機はむしろ悪化した。これはSEW2871がfunctional antagonistとして作用することによるものであった。この知見は既報とまったく逆のものであり驚くべき結果であった。適切なS1PR1刺激薬を開発することができればくも膜下出血の新規治療薬となる可能性は証明することができたため、本研究継続の希望となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全脳卒中で最も予後不良であるくも膜下出血においては臨床における有効性を示した治療薬は存在せず開発が急務である。本研究では細胞膜上のS1PR1を刺激することによりくも膜下出血の転機を改善することを仮説として動物実験を行った。S1PR1を拮抗することによりくも膜下出血の転機を悪化させることを証明することができた。一方で、適切なS1PR1刺激薬を特定することができなかったことから、その治療効果を証明することができなかった。しかし、S1PR1刺激薬はくも膜下出血の治療薬として有望なものであることは証明することができたことから、今後のS1PR1刺激薬の開発に期待をもたらすことができた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we demonstrated that the outcome after subarachnoid hemorrhage was worsened by antagonizing S1PR1 on cerebral vascular endothelial cells, and presumed that S1PR1 agonist could make the outcome improve. To obtain proof, we adopted SEW2871 as S1PR1 agonist, which has been used most frequently as selective S1PR1 agonist. Contrary to our hypothesis, SEW2871 deteriorated the outcome after subarachnoid hemorrhage. We demonstrated that SEW2871 degraded S1PR1 in brain microvessels and could work as a functional antagonist same as FDA approved S1PR1 modulator, FTY720 (finglimod). This is a novel surprising finding. Our data encourage further research and development of appropriate S1PR1 agonists because they are promised potential drug for subarachnoid hemorrhage.

研究分野：脳神経外科

キーワード：subarachnoid hemorrhage S1PR1 S1P blood brain barrier SEW2871 functional antagonist

1. 研究開始当初の背景

全脳卒中中で最も予後不良であるくも膜下出血においては臨床における有効性を示した治療薬は存在しない。脳血液関門(Blood Brain Barrier, BBB)の機能不全は脳卒中における神経損傷の増悪に関与することが示唆されている。脳血管内皮細胞は治療標的としての潜在性を有するが、BBB機能を制御する内皮細胞シグナル経路の理解が乏しいことから脳卒中における血管内皮を標的とした新たな治療法の開発が進んでいない。くも膜下出血においても発症早期よりBBB機能が破綻し血管透過性亢進が進み二次脳損傷をもたらす転帰不良に寄与することが知られている。スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)は細胞膜上のS1P受容体(S1PR)を介した内皮機能のモジュレーターである。これまでS1PRにはS1PR1からS1PR5まで5種類が報告されているが、それらの分布は細胞により大きく異なるが血管内皮細胞においてはS1PR1が圧倒的に多く分布している。BBBを有さない脳以外の臓器において血管内皮におけるS1PR1シグナルが血管透過性制御に重要な働きをしていることは周知であるが(2011, JCI; 2012, Dev Cell; 2013, J Lipid Res)、BBBを有する脳血管においても血管内皮のS1PR1シグナルがBBBを調整し血管透過性制御に関与することが近年明らかとなっている(2017, PNAS)。S1PR1機能的作動薬であるフィンゴリモド塩酸塩は多発性硬化症の治療薬として国内でも既に認可されているが、その作用機序は免疫抑制によるものである。一方で、その副作用として血管透過性亢進による黄斑浮腫などが問題となっている。

2. 研究の目的

本研究では、S1PR1シグナルによる免疫制御ではなく副作用の原因となる血管内皮での血管透過性制御に着目し、くも膜下出血病態への影響を明らかにし、さらにS1PR1を標的とした治療法の安全性・有効性について非臨床での予備的検討を行うことを目的とする。

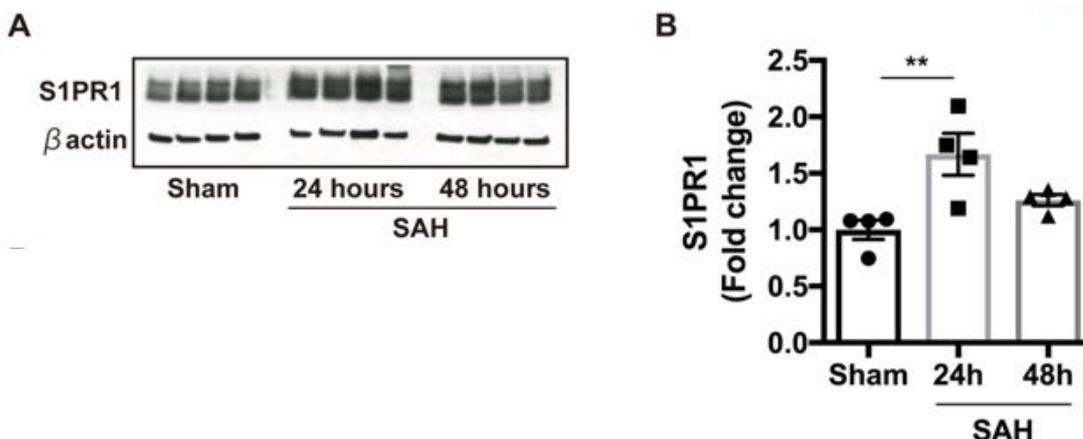
3. 研究の方法

本研究では、マウスくも膜下出血モデルを用いて、くも膜下出血病態における脳血管内皮S1PR1シグナルの脳血管透過性と早期脳損傷、転帰への関与を検証する。S1PR1シグナル調整によりくも膜下出血の転帰改善が得られるという動物実験における概念実証(POC)を取得して臨床治験に移行する事を最終目標としている。そのための基礎実験データを得ることを今回の研究計画において目標とし、以下を行う。

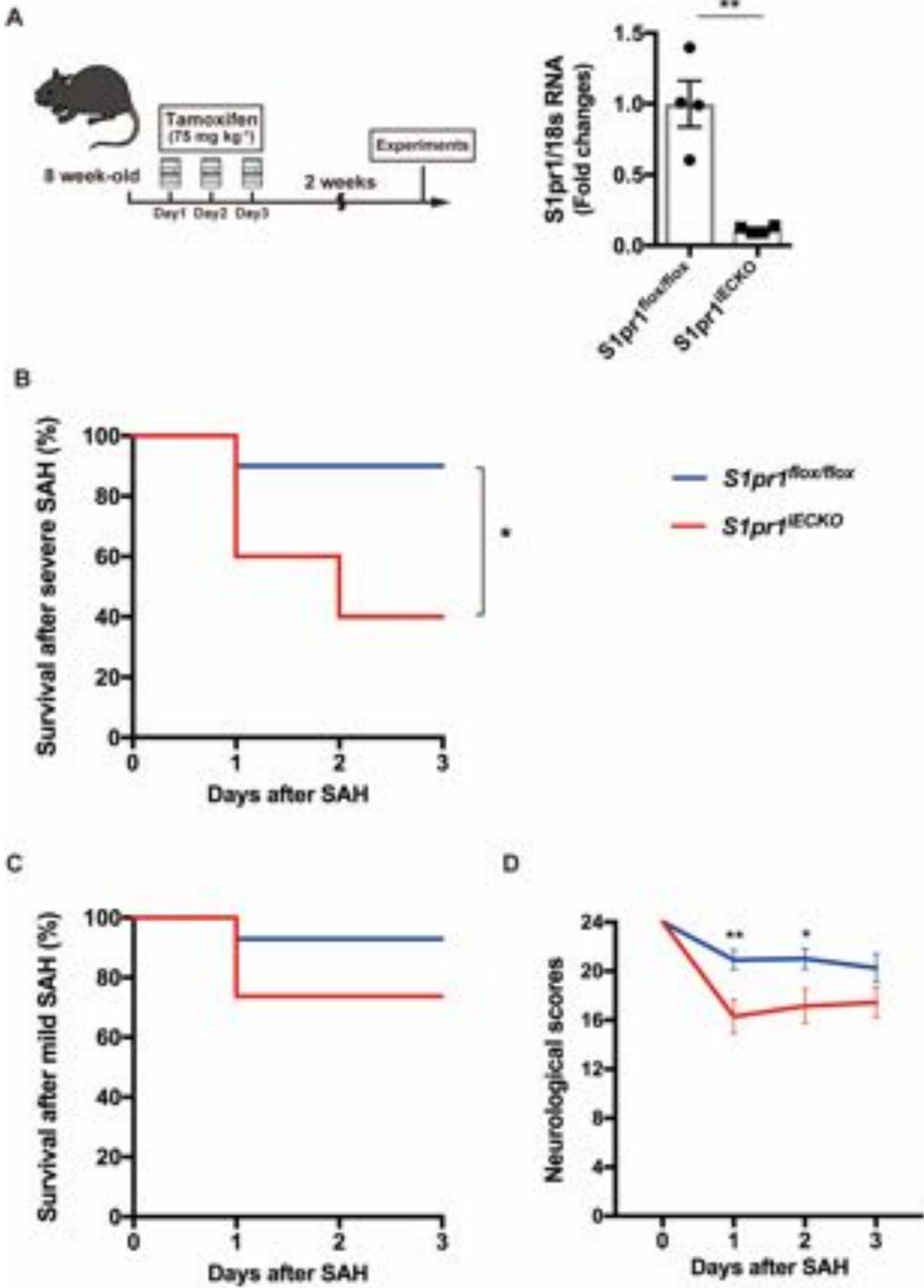
- ①野生型マウスにS1PR1拮抗薬を容量、回数を変更投与し最大の血管透過性亢進が得られる条件を検討する
※naïveな野生型マウスでは脳血管透過性は極めて低くS1PR1刺激薬によるさらなる低下は期待できない
- ②上記条件で野生型マウスくも膜下出血モデルにS1PR1拮抗薬を投与し脳血管透過性と転帰への影響を検証する
- ③血管内皮細胞特異的S1PR1ノックアウトマウスくも膜下出血モデルを用いて上記が脳血管内皮細胞S1PR1依存性の影響であることを確認する
- ④野生型マウスくも膜下出血モデルにS1PR1刺激薬を容量、投与タイミング、回数を変更投与し脳血管透過性と転帰を評価し最大効果が得られる至適容量および投与方法を確立する

4. 研究成果

- ①まずくも膜下出血後にS1PR1の発現が増加することを証明し、これに対し薬物的なS1PR1拮抗により野生型マウスにおいてくも膜下出血の転帰を悪化させることを明らかにした

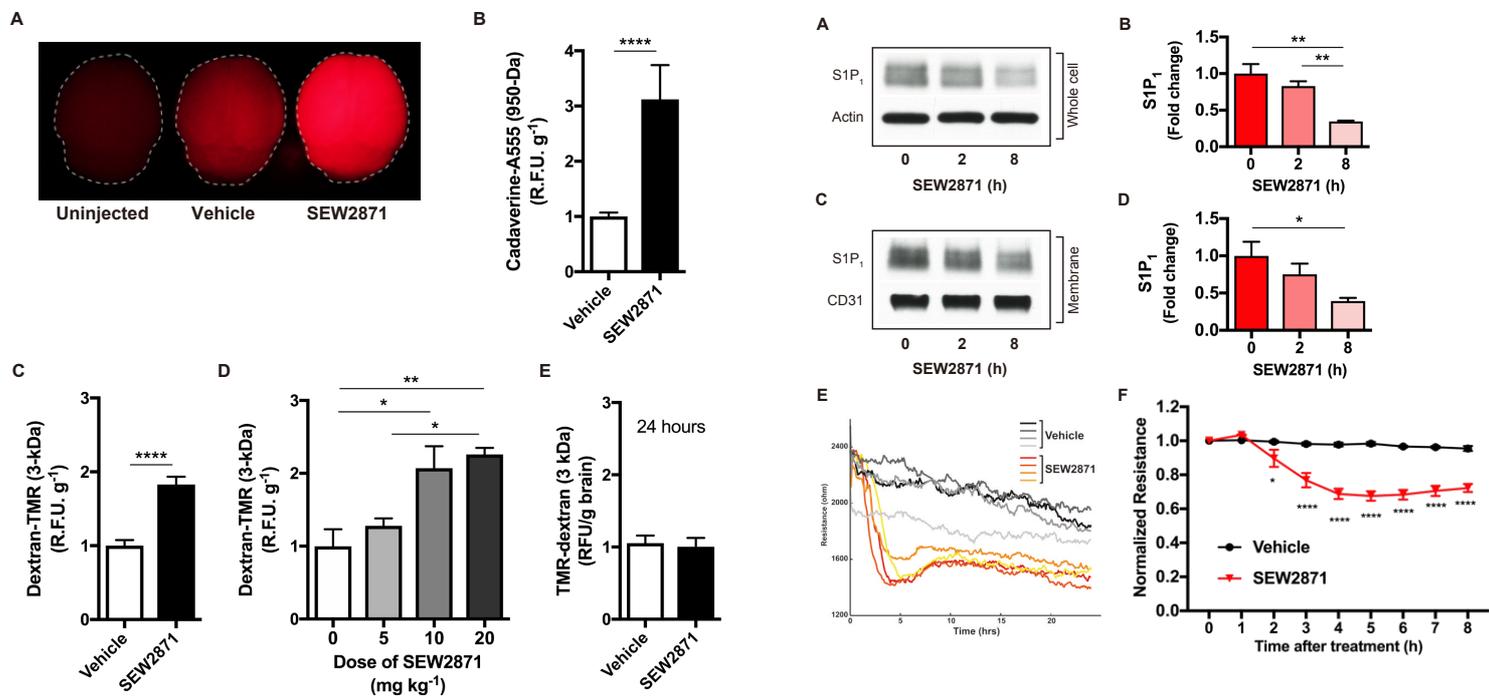


②血管内皮特異的遺伝子改変マウス ($S1pr1^{IECKO}$) を主に用いてその作用機序が血管内皮細胞での S1PR1 シグナル拮抗によりもたらされていることを証明した



③S1PR1 刺激薬投与によりマウスにおいてくも膜下出血の転帰を改善することを証明するために選択的 S1PR1 agonist として頻用されている SEW2871 を用いたが、仮説とは逆に転帰を悪化させた。

④これは SEW2871 が既報とは異なり用量依存性に S1PR1 を分解し functional antagonist として作用することにより脳血管透過性を亢進させることによることを証明した。当初の目的とは異なってしまったが、まったく新しい知見であった。



⑤今後、適切な S1PR1 刺激薬が開発されれば潜在的なくも膜下出血治療薬になり得る可能性を十分に示唆することができた

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Callegari Keri, Dash Sabyasachi, Uchida Hiroki, Shingai Yuto, Liu Catherine, Khodarkovskaya Anne, Lee Yunkyong, Ito Akira, Lopez Amanda, Zhang Tuo, Xiang Jenny, Kluk Michael J., Sanchez Teresa	4. 巻 120
2. 論文標題 Molecular profiling of the stroke-induced alterations in the cerebral microvasculature reveals promising therapeutic candidates	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 2205786120
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2205786120	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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	新妻 邦泰 (Niizuma Kuniyasu) (10643330)	東北大学・医工学研究科・教授 (11301)	
研究分担者	遠藤 英徳 (Endo Hidenori) (40723458)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	

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