

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09342

研究課題名（和文）好中球細胞外トラップを標的とした内頸動脈狭窄症不安定プラークに対する創薬

研究課題名（英文）Development of novel therapeutic method for unstable carotid plaque focusing on neutrophil extracellular traps

研究代表者

柏崎 大奈（KASHIWAZAKI, Daina）

富山大学・学術研究部医学系・講師

研究者番号：50374484

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：NETsは多くのプラーク内に発現していたが、不安定プラークでは安定プラークと比較して有意差を持って多数発現していることが判明した($P<0.01$)。我々の研究成果によりNETsは内頸動脈狭窄症の不安定プラーク化のメカニズムの一助を担っていることが判明した。われわれの結果は、実臨床において不安定プラークの診断、新たな治療方法の開発に寄与すると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

内頸動脈狭窄症の不安定プラークの発症機序をNETsの観点から解明した。今後の不安定プラークの創薬の一助になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：NETs was presented in unstable plaque in histological specimen. There were significant difference between unstable and stable plaque($P<0.01$) Our study suggested NETs play a crucial role of development of unstable plaque in carotid stenosis.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：Carotid plaque 好中球細胞外トラップ 拡張血管 unstable plaque calcification

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

当科では、2012年からプラークの不安定性と炎症についての研究を開始した。我々は、MRI/SPECTを用いた臨床データから93%におよぶ症候性内頸動脈狭窄症のプラークが遠位塞栓の機序により発症していることを示し、プラークの性状や不安定性が重要性を報告した。この結果から、プラークの不安定性を対象とした研究を本格的に開始した。CEAで得たプラーク検体を用いてプラーク内の新生血管が血管内皮前駆細胞(EPCs)の遊走により増勢すること、不安定プラーク内ではCD131陽性の幼弱なEPCsが多く誘導されていることを示した。また、幼弱なEPCsの誘導にはプラーク内の低酸素状態が引き金となっていることを報告した。さらに、幼弱なEPCsにより誘導された新生血管は血管内腔の径が拡張しており血管透過性の亢進状態でありプラーク内出血の原因となっていることを示した。また、臨床的に内頸動脈狭窄症のうちでも不安定プラークである患者は安定プラークと比較して冠動脈狭窄や腎不全に陥ることが多いことを報告した。これらの内頸動脈狭窄症の不安定プラークが全身血管の炎症性疾患を合併することをFDG-PETを用いてマクロファージの体内動態を調べその機序を解明した。臨床的には遠位塞栓を検出する放射線学的マーカーや不安定プラークのマーカーを報告している。以上の研究成果から我々は、動脈硬化の慢性炎症の引き金となる因子を解明し、治療へ結びつけることが必要であると考えた。好中球細胞外トラップNETsの不安定プラークへの影響を調べるために、本研究の立案に至った。

2. 研究の目的

好中球細胞外トラップ(NETs)は様々な疾患に関連しているとされている。好中球の新しい働きとして着目されており、我々は動脈硬化の進展や、特に内頸動脈狭窄症の不安定プラークへの影響を調べることを目的とした。また、臨床応用の観点から炎症により不安定化したプラークの放射線学的マーカーの探求することを目的とした。最終的にはNETsを起点とした内頸動脈狭窄症の進展予防や不安定化の予防や治療につながると考えた。またNETsのみならずNETsを起点として広がる炎症関連病態の解明につながると考えた。

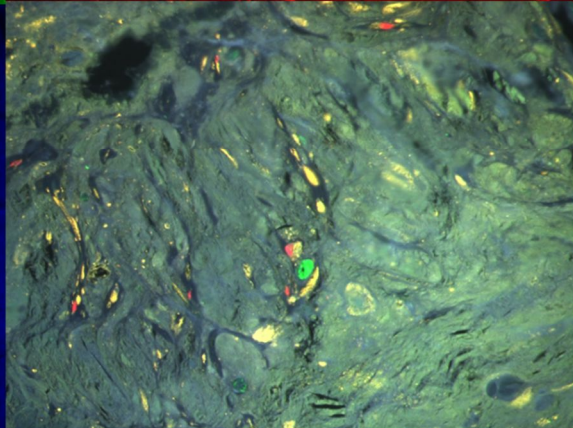
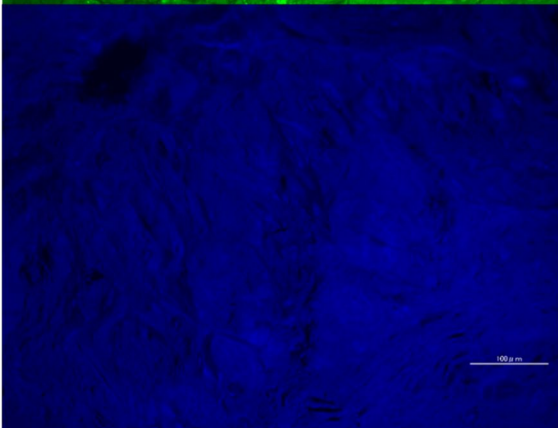
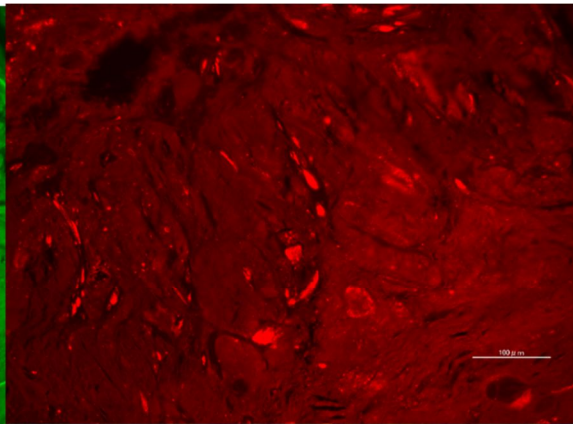
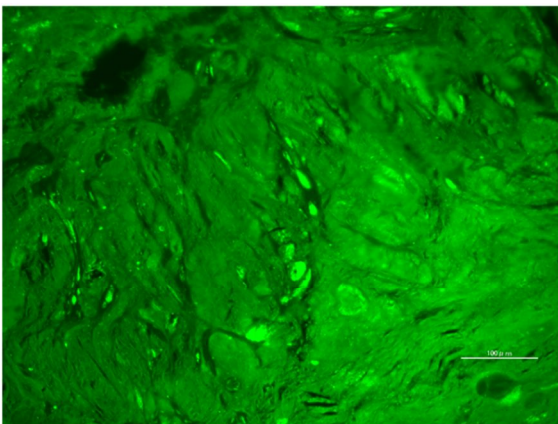
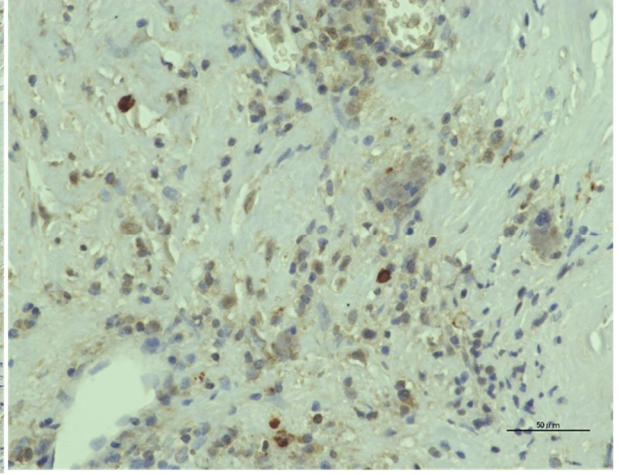
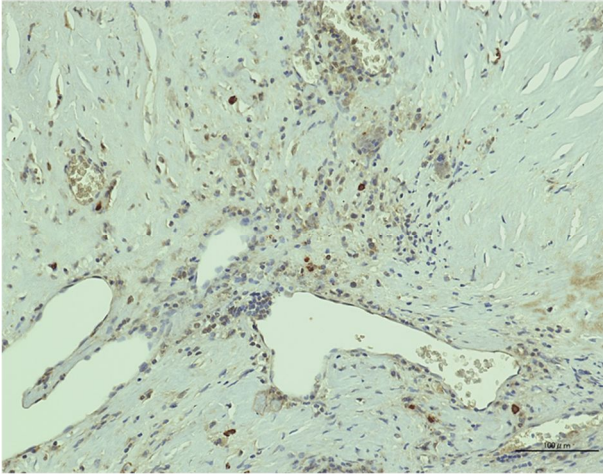
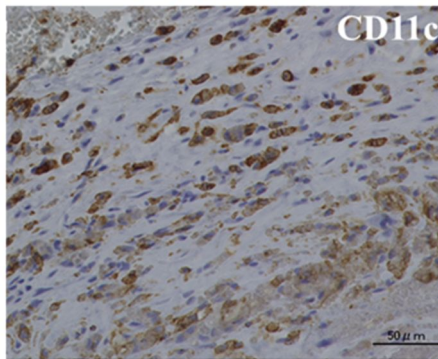
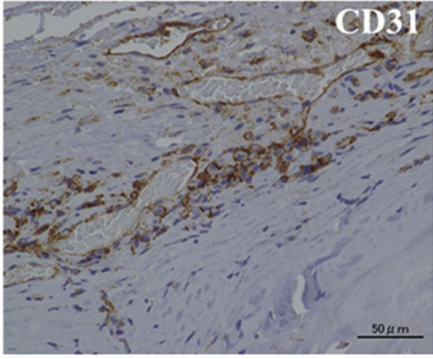
3. 研究の方法

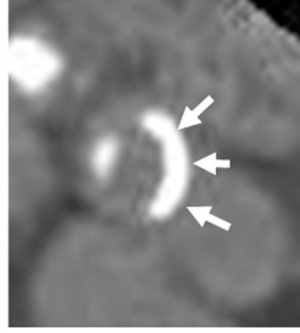
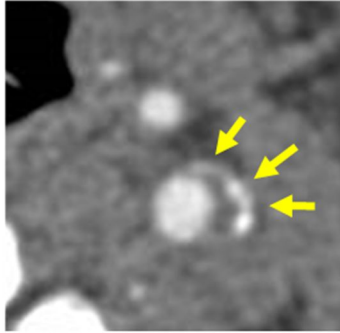
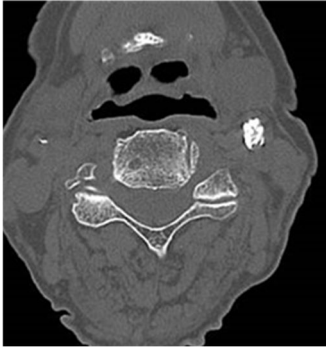
内頸動脈狭窄症に対して、検査ならびに治療を行った患者さんを対象とした。通常診療の症候の有無、MRI、MRプラークイメージング、造影CTA、冠動脈CTA、単純CTA、頸動脈USのデータをまとめた。また、CEAを実施した例は122例であり、このうち安定プラークが35例、不安定プラークが87例であった。これらのプラークに対して免疫染色を実施した。詳細には、CD66bの染色を完了し、これらの検体をH3Cit, NE, myeloperoxidase (MPO) DNA (DAPI)で複合染色をおこないNeutrophil Extracellular Trapsの染色をおこなった。現在は、プレパラート上のNeutrophil Extracellular Trapsの定量(ImageJを使用した。)を実施して完了した。対象症例全例でdual-energy CT (DECT)を撮像して石灰化の位置をプラーク性状ごとに観察した。

4. 研究成果

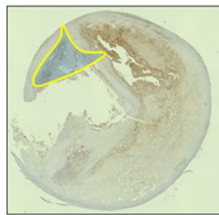
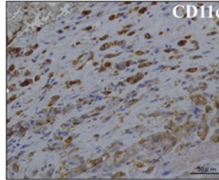
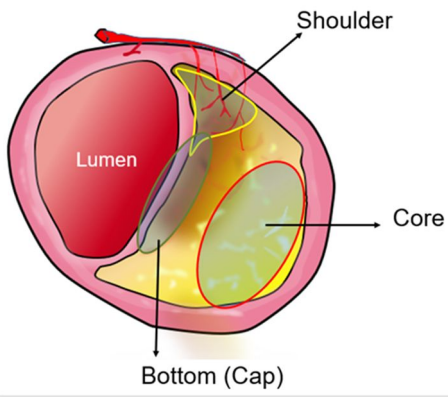
NETsは多くのプラーク内に発現していたが、不安定プラークでは安定プラークと比較して有意差を持って多数発現していることが判明した($P < 0.01$)。我々の研究成果によりNETsは内頸動脈狭窄症の不安定プラーク化のメカニズムの一助を担っていることが判明した。さらに我々は研究途中でプラークの石灰化にはrim状の小さなものと大きな石灰化が存在することに気が付き、不安定プラークのshoulder部分にはrim状の小さな石灰化が高頻度で見られていることを示して論文に報告を行った。また、マクロファージ(とくにM1マクロファージ)はshoulderに集簇していたことから、NETsなどの炎症を惹起する細胞はshoulderでおおくの炎症を引き起こしていることが判明した。このことは、プラーク内の病理解剖学的標的を決めるうえで重要な知見となった。下図は、不安定プラークの1例であるがshoulder部分に多くの血管、M1マクロファージが集簇している。同部位には(2段目の免疫染色)抗H3Cit抗体、抗NE抗体に陽性の細胞が多くみられている。これを2重染色でNETsであることを確認した(3段目)、4段目はshoulderの近傍に多く見られるrim状の石灰化の一例のDECTとシェーマである。

また、本件は通常診療で造影剤が使用できない、もしくはMRIが撮像できない症例に対して不安定プラークを同定する方法として使うことが可能である。





Shoulder is center of inflammation



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kashiwazaki Daina, Yamamoto Shusuke, Hori Emiko, Akioka Naoki, Noguchi Kyo, Kuroda Satoshi	4. 巻 164
2. 論文標題 Thin calcification ($\leq 2\text{mm}$) can highly predict intraplaque hemorrhage in carotid plaque: the clinical significance of calcification types	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Neurochirurgica	6. 最初と最後の頁 1635 ~ 1643
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00701-022-05205-x	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 Marutani Takaki, Kashiwazaki Daina, Yamamoto Shusuke, Akioka Naoki, Hori Emiko, Kuroda Satoshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Therapeutic strategy of severe circular calcified carotid plaque with hemodynamic impairment: A patient treated by carotid endarterectomy following balloon angioplasty to prevent hyperperfusion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surgical Neurology International	6. 最初と最後の頁 360 ~ 360
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.25259/SNI_417_2022	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 Kashiwazaki D, Yamamoto S, Hori E, Akioka N, Noguchi K, Kuroda S.	4. 巻 Apr 12
2. 論文標題 Thin calcification (<math>< 2\text{ mm}</math>) can highly predict intraplaque hemorrhage in carotid plaque: the clinical significance of calcification types.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Neurochirurgica	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00701-022-05205-x.	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 -

1. 著者名 Kashiwazaki D, Yamamoto S, Akioka N, Hori E, Shibata T, Kuwayama N, Noguchi K, Kuroda S.	4. 巻 163(6)
2. 論文標題 Dilated microvessel with endothelial cell proliferation involves intraplaque hemorrhage in unstable carotid plaque	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Neurochirurgica	6. 最初と最後の頁 1777-1785
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00701-020-04595-0.	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10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 柏崎大奈、丸山邦隆、山本修輔、秋岡直樹、堀恵美子、黒田 敏
2. 発表標題 不安定プラークをとりまく環境と脳血管イベントの発症メカニズム
3. 学会等名 第22回日本分子脳神経外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柏崎大奈、丸山邦隆、山本修輔、堀恵美子、秋岡直樹、黒田 敏
2. 発表標題 脳出血周囲の脳浮腫のサイズは急性期の感染症の頻度と相関する
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

1. 発表者名 柏崎大奈、丸山邦隆、山本修輔、秋岡直樹、堀恵美子、黒田 敏
2. 発表標題 高齢、high risk合併症時代の内頸動脈狭窄症に対するCEA/CASの長期予後とQOL
3. 学会等名 第52回日本脳卒中の外科学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柏崎大奈、堀恵美子、丸山邦隆、山本修輔、黒田 敏
2. 発表標題 症候性軽度内頸動脈狭窄症の臨床的特徴と外科治療、内科的治療の中長期成績の検討
3. 学会等名 第52回日本脳卒中の外科学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柏崎大奈、秋岡直樹、堀恵美子、山本修輔、丸山邦隆、黒田 敏
2. 発表標題 不安定プラークに対する治療戦略 狭窄度時代からプラーク性状重視へのパラダイムシフト
3. 学会等名 第52回日本脳卒中の外科学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柏崎大奈
2. 発表標題 脳卒中におけるさまざまな炎症
3. 学会等名 第54回岩手脳神経外科談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柏崎大奈
2. 発表標題 脳卒中の発症機序と表現型 脳循環代謝による考察
3. 学会等名 第30回東北脳SPECT研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柏崎大奈、山本修輔、秋岡直樹、堀恵美子、黒田 敏
2. 発表標題 内頸動脈狭窄症プラーク内の石灰化の分類と臨床的意義
3. 学会等名 第64回脳循環代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柏崎大奈、秋岡直樹、山本修輔、黒田 敏
2. 発表標題 内頸動脈狭窄症プラーク内の石灰化の分類と臨床的意義
3. 学会等名 第37回NPO法人日本脳神経血管内治療学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柏崎大奈、秋岡直樹、堀恵美子、桑山直也、黒田 敏
2. 発表標題 慢性炎症を中心とした不安定頸動脈プラークの科学
3. 学会等名 STROKE 2021 (第50回日本脳卒中の外科学会学術集会)
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
研究分担者	黒田 敏 (KURODA Satoshi) (10301904)	富山大学・学術研究部医学系・教授 (13201)	
研究分担者	桑山 直也 (KUWAYAMA Naoya) (30178157)	富山大学・学術研究部医学系・准教授 (13201)	
研究分担者	秋岡 直樹 (AKIOKA Naoki) (70422631)	富山大学・学術研究部医学系・講師 (13201)	

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