

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09367

研究課題名(和文) 脳動脈瘤壁の慢性炎症と退行性変化をもたらす血行力学的因子の解明

研究課題名(英文) Elucidation of hemodynamic factors resulting in chronic inflammation and degenerative changes in the wall of intracranial aneurysms

研究代表者

片岡 大治 (Kataoka, Hiroharu)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・部長

研究者番号：40359815

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)：我々は本研究で、ラットの頭蓋内に脳動脈瘤を誘発するモデルを用いて、脳動脈瘤発生部位のWall shear stressはむしろ周囲より低く、内弾性板の断裂や平滑筋細胞の脱分化が早期に生じていることを明らかにした。また頸部に動脈瘤を誘導するモデルを用いて、脳動脈瘤増大に関与する血行力学的因子及び慢性炎症との連関を明らかにした。破裂モデルでは、破裂部位近傍のvasa vasorumの発達とその分子機序を明らかにした。さらに、多施設共同で脳動脈瘤増大群と非増大群のcase control studyを行い、血管分岐角度やそれに伴う瘤内への血流流入量が脳動脈瘤増大をもたらす因子であることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

くも膜下出血は最も予後不良の疾患であり、その主たる原因疾患である脳動脈瘤の発生・増大・破裂のメカニズムの解明は喫緊の課題である。これまで脳動脈瘤壁にマクロファージが集積し慢性炎症が継続することにより、血管壁が菲薄・脆弱化するような退行性変化をおこすこと、血行力学的ストレスが脳動脈瘤の発生・増大・破裂を促進する因子であることは知られていたが、その両者のクロストークを含めた本質的なメカニズムについては明らかでなかった。本研究によりその一端が解明されたことにより、将来的に脳動脈瘤の新規治療法の開発やくも膜下出血の予後の改善につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we revealed no particular pattern of wall shear stress at the prospective site of intracranial aneurysms (IAs) using a rat induced IA model. At the IA prospective site, the disruption of internal elastic lamina and the phenotypic change of smooth muscle cells were observed in the early phase of IA induction. Using a rat model in which an aneurysm is induced in the cervical carotid artery, we demonstrated hemodynamic factors related to IA growth and their links to the accumulation of macrophages. In a rat model in which induced IAs rupture, we revealed the development of vasa vasorum around the rupture site and one of their molecular mechanisms. In a multicenterd case-control study of human IAs, we demonstrated that the bifurcation angle of intracranial arteries and the blood flow volume into IAs were associated with IA growth.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：脳動脈瘤 血行力学的負荷 慢性炎症

1. 研究開始当初の背景

くも膜下出血は最も予後不良の脳卒中病型であり、高い死亡率と後遺症率により大きな社会的損失をもたらす疾患である。くも膜下出血の主たる原因疾患は脳動脈瘤であり、その発生・増大・破裂のメカニズムを明らかにし、それを抑制する治療を開発する必要がある。これまで我々のグループは、脳動脈瘤モデル動物を用いた研究で、脳動脈瘤壁にマクロファージが集積し、マクロファージを介する慢性炎症が継続することにより、血管壁が菲薄・脆弱化するような退行性変化をおこすことを明らかにしてきた。一方以前より、血行力学的ストレスが脳動脈瘤の発生・増大・破裂を促進すると言われており、流体力学的手法である Computational Fluid Dynamics (CFD)を用いてヒトの未破裂瘤と破裂瘤の違いを見出そうとする多くの研究が行われてきた。しかしながら、現在まで異なる学説が混在しており、コンセンサスは得られていない。何らかの血行力学的負荷が脳動脈瘤壁の慢性炎症を誘導することは間違いがないが、研究開始当初は、分子生物学的研究と流体力学的研究が独立して行われてきたため、両者のクロストークを含めた本質的なメカニズムについては明らかにできていなかった。

2. 研究の目的

脳動脈瘤発生・増大・破裂をもたらす血管壁の慢性炎症と退行性変化を引き起こす本質的なメカニズムを解明するため、本研究を企図した。本研究の目的は、脳動脈瘤の発生・増大・破裂を制御する血行力学的因子の同定と、同定した因子が脳動脈瘤壁の慢性炎症や退行性変化に引き起こす分子メカニズムの解明である。

3. 研究の方法

(1) 脳動脈瘤動物モデルを用いた CFD 解析

ラット Willis 動脈輪の嗅動脈-前大脳動脈分岐部に脳動脈瘤を誘発するモデル (OA-ACA モデル)を用いて、7T-MRI による血管形状データを取得して CFD を行った。同部位には、intimal pad といわれる内皮細胞が重なりあって形成される隆起が ACA 側に生じているため、それを血管形状に含めた形で CFD を行った。さらに、ラットの頸部頸動脈に動脈瘤を誘導するモデル (CCA モデル)を用いて、7T-MRI による血管形状データを取得して CFD を行い、組織学的所見と対比することにより、脳動脈瘤増大に関する血行力学的因子を明らかにし、動脈瘤壁の炎症との相関を解析した。

(2) 脳動脈瘤動物モデルにおける組織学的所見の詳細な検討

OA-ACA モデルで、動脈瘤発生前、動脈瘤誘導 1 日後、3 日後の OA-ACA 分岐部を透過電顕 (TEM) で詳細に観察した。観察項目として、内弾性板の断裂、内皮細胞障害、平滑筋細胞の形質転換、マクロファージの集積、線維芽細胞の活性化につき検証を行った。CCA モデルでは、動脈瘤誘導後に Elastica van Gieson 染色・免疫組織染色を行い、血管壁の退行性変化やマクロファージの集積を経時的に解析した。さらに、最近開発した破裂モデルでは、免疫組織染色により破裂部近傍の組織学的変化を解析した。

(3) 脳動脈瘤動物モデルにおける血行力学的因子と炎症の連関の検討

CCA モデルを用いて、マクロファージに取り込まれて MRIT2* 低信号となる陰性造影剤 Ferromoxytol を用いて、脳動脈瘤壁の炎症の局在を可視化した。その炎症の可視化データを CFD のデータと対照させて、血行力学的因子と炎症の連関を検討した。

(4) ヒト脳動脈瘤の増大・破裂に関する血行力学的因子の検証

京都大学及び関連施設から、観察中に増大・破裂をおこした脳動脈瘤と 3 年以上増大も破裂もしなかった脳動脈瘤の画像データを収集し、この 2 群間で Case Control Study を行い、ヒト脳動脈瘤増大に関する解剖学的因子や血行力学的因子を検証した。

4. 研究成果

(1) OA-ACA モデルを用いた脳動脈瘤発生に関する血行力学的因子と初期の組織学的変化

OA-ACA モデルを用いて、7T-MRI による血管形状データを取得して CFD を行い、脳動脈瘤発生に関する血行力学的因子を明らかにした。その結果、予想に反して脳動脈瘤が誘発される OA-ACA 分岐部の ACA 側では、むしろ wall shear stress (WSS) が低くなっており (図 1)、従来いわれてきた脳動脈瘤は高い WSS の部位に好発するという仮説に反するものであった。

また、同モデルを用いた電子顕微鏡による組織学的解析では、脳動脈瘤発生期の初期において、すでに内弾性板が断裂して消失し始めており (図 2)、また中膜の血管平滑筋細胞が脱分化をおこして内膜に移動してくる像が捉えられた。一方で、脳動脈瘤の病態進展に重要な役割を果たすマクロファージは、初期には血管壁に集積しておらず、脳動脈瘤発生には増大・破裂とは異なるメカニズムが関与していることが示唆された。(Kataoka et al. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2020)

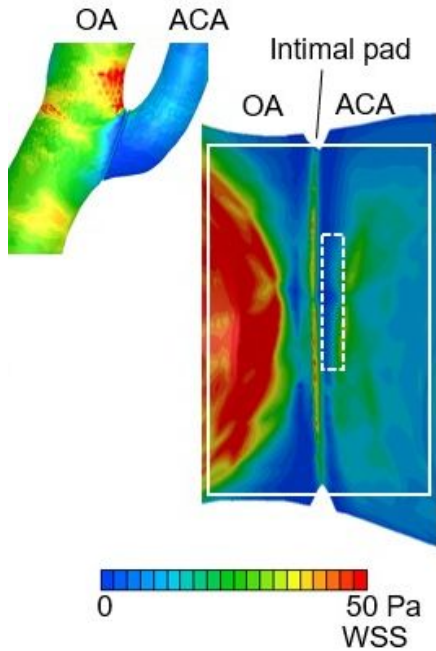


図 1 OA-ACA モデルにおける WSS の分布

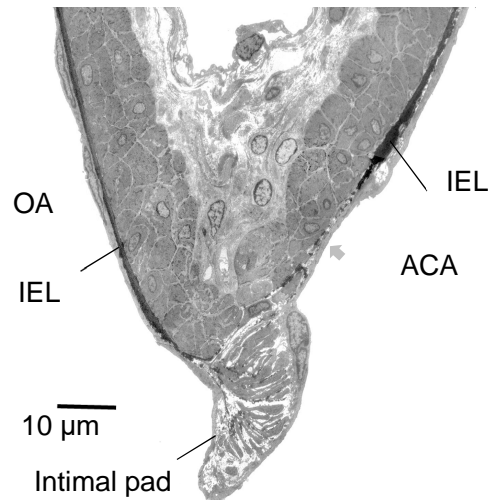
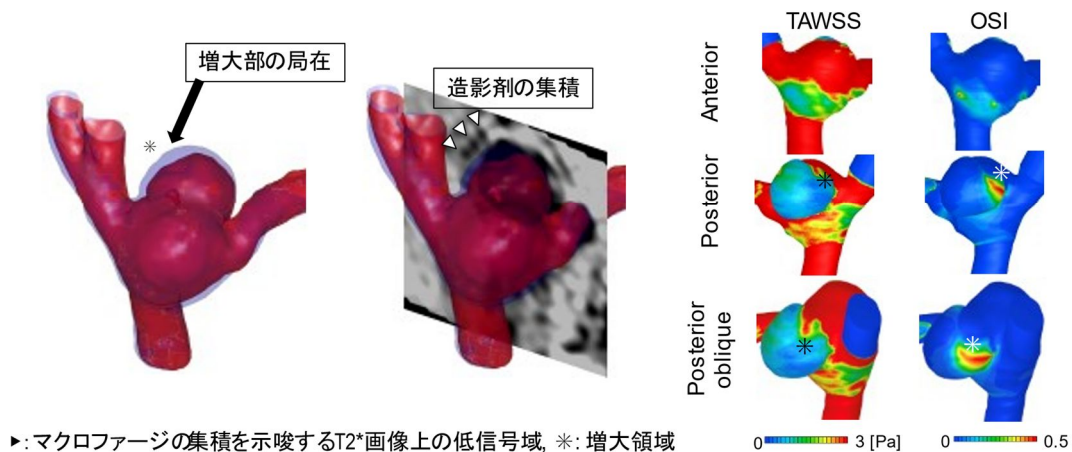


図 2 OA-ACA 分岐部の透過電顕所見

(2) CCA モデルを用いた脳動脈瘤増大に関する血行力学的因子の同定と炎症との関連の解析
 CCA モデルを用いて、7T-MRI による血管形状データを取得して CFD を行うことに成功した。このモデルにおいては、動脈瘤が増大する群とそうでない群に分かれ、増大する群においてマクロファージが将来の増大部に集積し、その部位は WSS が低く、oscillatory shear index (OSI) が高いという流体特性を有していた (図 3)。以上より、低 WSS と高 OSI 環境下でマクロファージの集積が促進され、それによって脳動脈瘤が増大することが示唆された。(Shimizu et al. J Neuropathol Exp Neurol 80:79-88, 2021)



▶: マクロファージの集積を示唆するT2*画像上の低信号域, *: 増大領域

増大部位・ferumoxytolの集積・低WSS領域/高OSI領域が共局在している

図 3 CCA モデルにおけるマクロファージの集積と CFD 所見

また、CCA モデルを用いて、血管の分岐角度と、その後の脳動脈瘤増大について検討し、動脈瘤進行群で当初の分岐血管の分岐角度が有意に大きいことを報告した。(Shimizu et al. Sci Rep. 2022) さらに、進行群の動脈瘤の増大時期に cellular communication network factor 1 (CCN1) の発現が上昇することを protein array analysis と免疫組織染色で明らかにした。(Shimizu et al. J Neuropathol Exp Neurol 80:695-704, 2021)

(3) 破裂モデルを用いた脳動脈瘤破裂のメカニズムの解析

脳動脈瘤破裂モデルを用いて、破裂部周囲に新生血管の増生がみられること、この血管新生に低酸素環境で誘導されるマクロファージからの vascular endothelial growth factor (VEGF) が作用していることを見いだした。(Ono et al. Sci Rep. 2023) また、破裂モデルを用いて、増大期の動脈瘤壁に集積するマクロファージの遺伝子発現 profile を解析し、従来より知られている M0、M1、M2 などの分画とは異なる、神経伝達物質により制御される特有の分画のマクロファージが集積することを明らかにした。(Okada et al. J Stroke and Cerebrovasc Dis. 2022)

(4) ヒト脳動脈瘤の増大・破裂に関する血行力学的因子の同定 (Case Control Study)

京都大学及び関連 4 施設から、観察中に増大・破裂をおこした脳動脈瘤と 3 年以上増大も破裂もしなかった脳動脈瘤を登録して Case Control Study を行った。前交通動脈瘤については、増大・破裂群 27 例とコントロール群 65 例の比較を行い、増大・破裂群で前交通動脈と前大脳動脈の分岐角度が有意に大きいことを示した。また多変量解析においても同分岐角度は増大・破裂を予測する独立した危険因子であった。(Shimizu et al. Sci Rep. 2022) 現在、中大脳動脈瘤についても同様の解析を行っている。中大脳動脈瘤においては、母血管から動脈瘤内への流入血流量の比を示す、aneurysmal inflow coefficient (AIRC) が、脳動脈瘤増大に関する独立した危険因子であることを示した。(Miyata et al. J Neurosurg. 2022)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12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 Shimizu Kampei, Kataoka Hiroharu, Imai Hirohiko, Miyata Takeshi, Okada Akihiro, Sakai Nobuyuki, Chin Masaki, Iwasaki Koichi, Hatano Taketo, Imamura Hirotooshi, Ishibashi Ryota, Goto Masanori, Koyanagi Masaomi, Aoki Tomohiro, Miyamoto Susumu	4. 巻 12
2. 論文標題 The bifurcation angle is associated with the progression of saccular aneurysms	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7409
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-11160-5	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 Miyata Takeshi, Kataoka Hiroharu, Shimizu Kampei, Okada Akihiro, Yagi Takanobu, Imamura Hirotooshi, Koyanagi Masaomi, Ishibashi Ryota, Goto Masanori, Sakai Nobuyuki, Hatano Taketo, Chin Masaki, Iwasaki Koichi, Miyamoto Susumu	4. 巻 Online ahead of print
2. 論文標題 Predicting the growth of middle cerebral artery bifurcation aneurysms using differences in the bifurcation angle and inflow coefficient	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 1~9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3171/2022.8.JNS22597	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 Okada Akihiro, Koseki Hirokazu, Ono Isao, Kayahara Tomomichi, Kurita Hiroki, Miyamoto Susumu, Kataoka Hiroharu, Aoki Tomohiro	4. 巻 31
2. 論文標題 Identification of The Unique Subtype of Macrophages in Aneurysm Lesions at the Growth Phase	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases	6. 最初と最後の頁 106848 ~ 106848
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2022.106848	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 Ono Isao, Abekura Yu, Kawashima Akitsugu, Oka Mieko, Okada Akihiro, Hara Shintaro, Miyamoto Susumu, Kataoka Hiroharu, Ishii Akira, Yamamoto Kimiko, Aoki Tomohiro	4. 巻 82
2. 論文標題 Endothelial cell malfunction in unruptured intracranial aneurysm lesions revealed using a 3D-casted mold	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Neuropathology & Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 49 ~ 56
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jnen/nlac104	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 Ono Isao, Kayahara Tomomichi, Kawashima Akitsugu, Okada Akihiro, Miyamoto Susumu, Kataoka Hiroharu, Kurita Hiroki, Ishii Akira, Aoki Tomohiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Hypoxic microenvironment as a crucial factor triggering events leading to rupture of intracranial aneurysm	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-32001-z	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 Shimizu Kampei, Imai Hirohiko, Kawashima Akitsugu, Okada Akihiro, Ono Isao, Miyamoto Susumu, Kataoka Hiroharu, Aoki Tomohiro	4. 巻 80
2. 論文標題 Induction of CCN1 in Growing Saccular Aneurysms: A Potential Marker Predicting Unstable Lesions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuropathology & Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 695 ~ 704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnen/nlab037	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 Miyata Takeshi, Minami Manabu, Kataoka Hiroharu, Hayashi Kosuke, Ikedo Taichi, Yang Tao, Yamamoto Yu, Yokode Masayuki, Miyamoto Susumu	4. 巻 9
2. 論文標題 Osteoprotegerin Prevents Intracranial Aneurysm Progression by Promoting Collagen Biosynthesis and Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e015731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.119.015731	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 Shimizu Kampei, Imamura Hiroto, Tani Shoichi, Adachi Hidemitsu, Sakai Chiaki, Ishii Akira, Kataoka Hiroharu, Miyamoto Susumu, Aoki Tomohiro, Sakai Nobuyuki	4. 巻 16
2. 論文標題 Candidate drugs for preventive treatment of unruptured intracranial aneurysms: A cross-sectional study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0246865
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0246865	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 Shimizu Kampei, Kataoka Hiroharu, Imai Hirohiko, Yamamoto Yuto, Yamada Tomohiro, Miyata Haruka, Koseki Hirokazu, Abekura Yu, Oka Mieko, Kushamae Mika, Ono Isao, Miyamoto Susumu, Nakamura Masanori, Aoki Tomohiro	4. 巻 80
2. 論文標題 Hemodynamic Force as a Potential Regulator of Inflammation-Mediated Focal Growth of Saccular Aneurysms in a Rat Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neuropathology & Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 79 ~ 88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnen/nlaa131	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 KATAOKA Hiroharu, YAGI Takanoobu, IKEDO Taichi, IMAI Hirohiko, KAWAMURA Koichi, YOSHIDA Kazumichi, NAKAMURA Masanori, AOKI Tomohiro, MIYAMOTO Susumu	4. 巻 60
2. 論文標題 Hemodynamic and Histopathological Changes in the Early Phase of the Development of an Intracranial Aneurysm	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurologia medico-chirurgica	6. 最初と最後の頁 319 ~ 328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2176/nmc.st.2020-0072	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 Abekura Yu, Ono Isao, Kawashima Akitsugu, Takizawa Katsumi, Koseki Hirokazu, Miyata Haruka, Shimizu Kampei, Oka Mieko, Kushamae Mika, Miyamoto Susumu, Kataoka Hiroharu, Ishii Akira, Aoki Tomohiro	4. 巻 17
2. 論文標題 Eicosapentaenoic acid prevents the progression of intracranial aneurysms in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neuroinflammation	6. 最初と最後の頁 129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12974-020-01802-8	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 Hayashi Kosuke, Kataoka Hiroharu, Minami Manabu, Ikedo Taichi, Miyata Takeshi, Shimizu Kampei, Nagata Manabu, Yang Tao, Yamamoto Yu, Yokode Masayuki, Miyamoto Susumu	4. 巻 134
2. 論文標題 Association of zinc administration with growth suppression of intracranial aneurysms via induction of A20	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 992 ~ 998
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2020.1.JNS192047	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 片岡大治
2. 発表標題 脳動脈瘤の病態と自然歴
3. 学会等名 第41回日本脳神経外科コンgres総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 片岡大治
2. 発表標題 脳動脈瘤破裂のメカニズムはどこまでわかっているか
3. 学会等名 第30回日本脳ドック学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 片岡大治
2. 発表標題 脳動脈瘤の発生と破裂の分子学的機序
3. 学会等名 第80回日本脳神経外科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 清水寛平
2. 発表標題 薬物治療と脳動脈破裂によるくも膜下出血の発症の関連についてのメタ解析
3. 学会等名 STROKE2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮田武
2. 発表標題 OsteopogegerinはTGF- 1-Smad2/3経路を介して脳動脈瘤の増大を抑制する
3. 学会等名 STROKE2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 片岡大治
2. 発表標題 血管壁からみた脳動脈瘤の病態と治療
3. 学会等名 第40回日本脳神経外科コングレス総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 片岡大治
2. 発表標題 脳動脈瘤の病態と治療 -血行力学的因子と炎症に注目したアプローチ-
3. 学会等名 第29回日本脳ドック学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮田武
2. 発表標題 母血管血流量に対する瘤内血流量の比は中大脳動脈瘤の増大破裂に関連する
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第79回学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 清水寛平
2. 発表標題 炎症依存的な動脈瘤増大を制御する因子としての血行力学的負荷：ラット脳動脈瘤における検証
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第79回学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮田武
2. 発表標題 母血管血流量に対する瘤内血流量の比は小型中大脳動脈瘤の増大破裂に関連する
3. 学会等名 STROKE2021
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	八木 高伸 (Yagi Takanobu) (00468852)	早稲田大学・理工学術院・主任研究員(研究院准教授) (32689)	
研究 分担者	中村 匡徳 (Nakamura Masanori) (20448046)	名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授 (13903)	

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