

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17915

研究課題名（和文）抗酸化ナノメディシンを用いて脳虚血再灌流障害を制御する新たな脳保護療法の確立

研究課題名（英文）Development of Nutrient Artery Chemoembolization Therapy for Malignant and Reluctant Meningiomas

研究代表者

秋本 大輔（AKIMOTO, Taisuke）

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：90846718

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）：脳梗塞急性期の脳主幹動脈閉塞症に対する血栓回収療法の有効性は確立されたが、再灌流障害による転帰の悪化が新たな課題である。我々は開発した抗酸化ナノ粒子を用いて脳虚血再灌流障害を制御できる新たな脳保護療法の確立を目指している。実施した研究では、サル一過性脳虚血モデルを確立し、抗酸化作用のある高分子ミセル化合物である“抗酸化ナノ粒子”の投与7日目までの有効性と作用機序を検証し、その優れた有効性とフリーラジカル消去作用を評価することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

齧歯類ではなく、神経症状を確認できるカニクイザルの虚血再還流のモデルの作成ができたことは、血栓回収療法が広く広まっている現状で、新たな研究のモデルとしても使用可能であり、この分野の発展に寄与できることがある。また、霊長類の虚血再還流で抗酸化ナノ粒子がその効果を示したことは、今後人に応用する上で重要な結果であり、脳梗塞治療の新たな一手になる可能性を示唆している。神経学的に、及び脳梗塞体積を減らす可能性があり、血栓回収療法の方法にも影響を与えうる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Although the efficacy of thromboprophylaxis for treating occlusion of the main cerebral artery in the acute phase of stroke has been established, the challenge of managing worsened outcomes due to reperfusion injury remains. We aim to develop a novel cerebroprotective therapy to mitigate cerebral ischemia-reperfusion injury using our antioxidant nanoparticles. In our study, we established a monkey model of transient ischemia and investigated the efficacy and mechanism of action of 'antioxidant nanoparticles,' a polymeric micellar compound with antioxidant properties, over a 7-day administration period. Our evaluation demonstrated their superior efficacy and free radical scavenging activity.

研究分野：脳神経外科

キーワード：脳梗塞 ELVO カニクイザル ナノ粒子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳梗塞急性期の脳主幹動脈閉塞症に対する血栓回収療法の有効性は確立されたが、再灌流障害による転帰の悪化が新たな課題である。我々は開発した抗酸化ナノ粒子を用いて脳虚血再灌流障害を制御できる新たな脳保護療法の確立を目指している。本研究では、げっ歯類を用いた病態、及び治療モデルの限界を打破するために、サルを用いてマイクロカテーテルやバルーンを用いた一過性中大脳動脈閉塞モデルを作製し、再灌流前にカテーテルルーメンより閉塞遠位部に抗酸化ナノ粒子を投与してから閉塞を解除させる大型動物の脳虚血再灌流障害の治療モデルを作成し、よりヒトの脳主幹動脈閉塞症に近い病態を用いた抗酸化ナノ粒子の有効性評価と作用機序の解明を行った。

2. 研究の目的

脳梗塞急性期の脳主幹動脈閉塞症に対する血栓回収療法の有効性は確立されたが、再灌流障害による転帰の悪化が新たな課題である。これまで我々は、マウス脳虚血再灌流障害モデルを用いて抗酸化ナノ粒子の脳保護効果を証明した (Hosoo, Marushima, Stroke 2017)。しかし、げっ歯類を用いたモデルは、従来から指摘されている霊長類との種の違いによる有効性の違いに加え、ヒトに用いるマイクロカテーテル等の機器を用いることができないため、脳虚血再灌流障害の病態モデル、およびそれに対する脳保護治療モデルの再現に限界がある。げっ歯類で有効性が確認された抗酸化ナノ粒子がヒトにおいても有効であるのかどうか、この学術的な問いに答えるために、本研究課題では First In Human 試験の前にサルを用いた脳虚血再灌流障害の病態モデルと脳保護治療モデルを再現し、抗酸化ナノ粒子の有効性とその作用機序を検証した。

3. 研究の方法

<評価薬剤の抗酸化ナノ粒子について>

抗酸化ナノ粒子はポリエチレングリコール、ポリクロロメチルスチレン、フリーラジカル消去剤の TEMPO (2,2,6,6-テトラメチルピペリジン 1-オキシル) がアミノ基により共有結合されたブロック共重合体である (図 1)。水溶液中で自己組織化により径 40nm のミセルを形成する。筑波大学数理物質系長崎幸夫研究室で作製し、筑波大学医学医療系脳神経外科研究室、および霊長類医科学センターへ運搬し、冷蔵保存する。

<サル脳虚血再灌流モデルと抗酸化ナノ粒子による脳保護治療>

1. カニクイザルを用い、呼吸循環モニタリング下に全身麻酔を導入する。右大腿動脈に 4F シースを留置、カテーテルを右内頸動脈留置し、バルーン付きカテーテルを右中大脳動脈 M1 起始部に誘導する。ヘパリン化にて血栓予防した上で、バルーンにて閉塞 (180 分予定) し、MRI で脳梗塞巣を評価する。

2. 閉塞脳動脈の遠位側に留置したカテーテルから抗酸化ナノ粒子 (対照: 生理食塩水) を脳虚血部に直接動脈投与する。薬剤投与後に閉塞部を再開通させる。

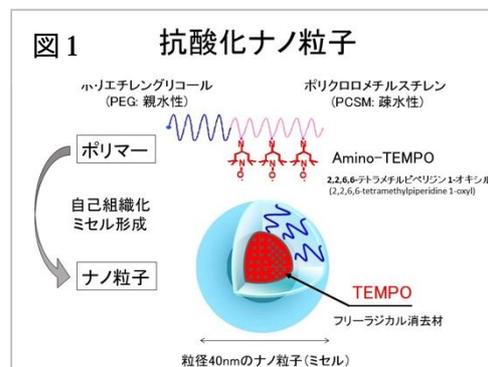
再開通 24 時間後の Day1 に MRI を撮像し、脳梗塞体積、頭蓋内出血、脳浮腫を評価する。Day1, Day3, Day7 に神経学的評価を行い、Day7 に安楽死させ、組織評価を行う。また 28 日の長期生存での評価も行った。

組織評価は、ナノ粒子の脳内および体内分布、血液脳関門、脳神経血管ユニット、神経細胞死、神経細胞、アストロサイト、ミクログリア、脳組織のフリーラジカル消去活性、活性酸素が関与するシグナル (MAPK, PI3K-Akt-mTOR, Ca²⁺ signaling 等) の変化を検証する。

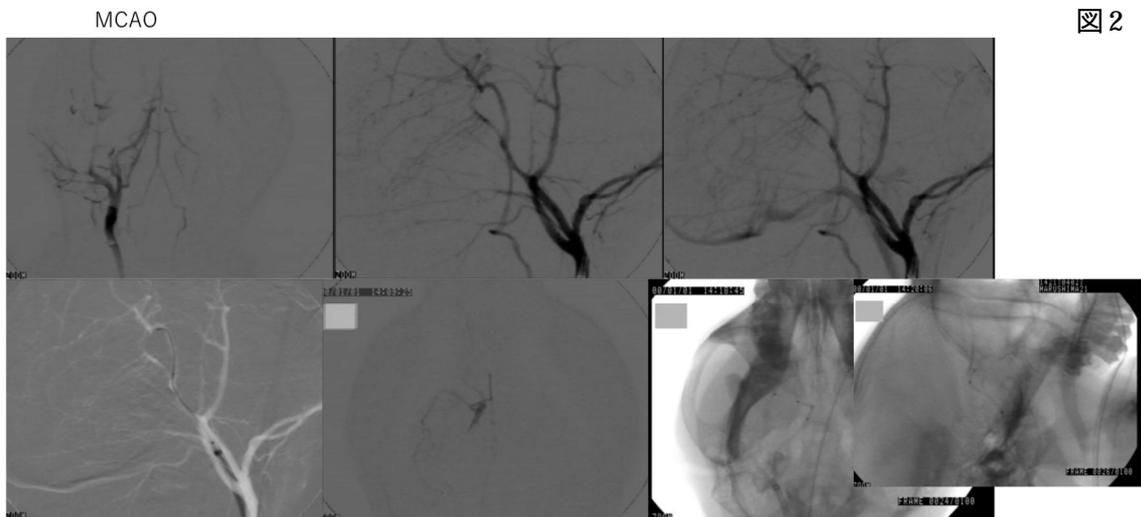
動物実験は霊長類医科学センターで行い、脳組織の解析は筑波大学医学医療系脳神経外科研究室で行う。

4. 研究成果

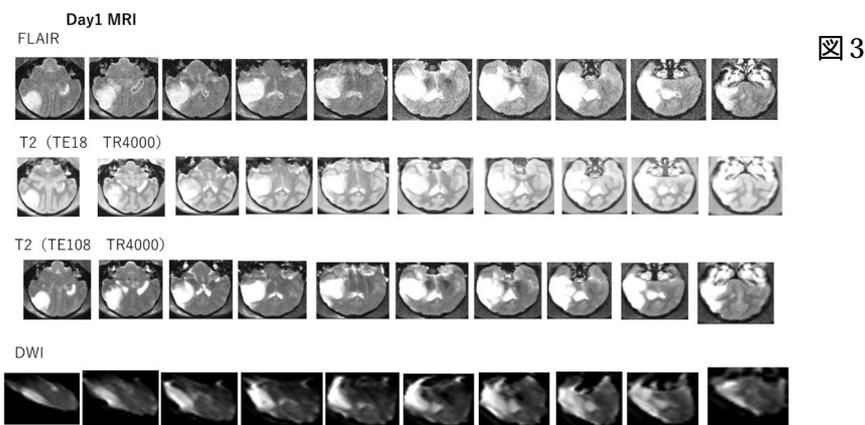
カニクイザルで一過性の虚血モデルを作成でき、カテーテルも想定していたもので実施可能であった。虚血モデルの作成するためのいくつかのプレテストの後、プロトコルを作成し、最終的に 180 分間のバルーンカテーテルによる閉塞で一過性の虚血モデルの作成を行った (図 2)。虚血の評価を MRI とアップルテストなどの神経学的評価で評価を行っていった。最終的に安楽死させた梗塞の組織標本からナノ粒子の分布状況などを組織染色して組織内に取り込まれていることを確認し、投与していない側の脳には取り込みがないことも確認している。MRI で脳梗塞



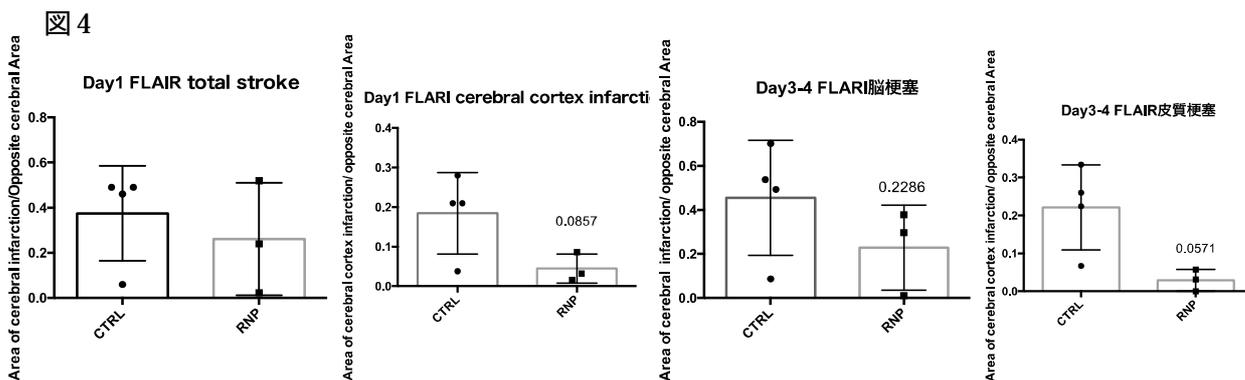
の体積を簡易的に測定し、比較していた。



バルーンデフレーション前に生理食塩水0.40mlを1分かけて投与、生理食塩水0.5ccで1分かけて後押し、1~2分程度待ったのちに、バルーンデフレーションし、システム抜去、止血確認し閉創した。



1 日後の MRI で脳梗塞が作成されており、MRI で脳梗塞モデルができていることを確認できた。



皮質梗塞に関して、3-4 日後で CTRL 群に比べて薬剤投与群で皮質梗塞の縮小傾向を認めた (図 4)。一過性の虚血モデルをカニクイザルにおいて作成に成功している。安定したモデル作成は難しい部分があり、脳梗塞の大きさは個体差があるのが現状であり、引き続きのモデル作成と薬剤投与群と非投与群の比較や薬剤投与後のより長期の効果を観察する必要がある。モデルの作成と薬剤効果の可能性を示していることは、今後の新たな治療可能性の一步となる可能性があり、さらなる検証と副作用に関する試験を行っていき、臨床応用へと繋げていく足掛かりとなったと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 丸島愛樹, 長崎幸夫, ARNELA Mujagic, 細尾久幸, 平山暁, 松井裕史, 秋本大輔, 渡邊真哉, 石川栄一, 松丸祐司 |
| 2. 発表標題 レドックスナノ粒子による新たな神経保護療法の実用化 |
| 3. 学会等名 日本酸化ストレス学会学術集会 |
| 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 |
|-------|-------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 丸島 愛樹 (Marushima Aiki) | | |

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 |
|---------|---------|