

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 29 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591850

研究課題名（和文） 脳動脈瘤破裂の病態にかかわる分子機構の解明と、薬物療法開発のための基礎研究

研究課題名（英文） The basic research for the molecular mechanism of the pathogenesis of cerebral aneurysm

研究代表者

河野 隆幸（KAWANO TAKAYUKI）

熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号：50448536

研究成果の概要（和文）：動脈瘤の発生、増大の機序として、血管壁への MΦ 浸潤、COX-1、COX-2 産生が関与していると考えられた。また、COX-2 の内膜への発現は動脈瘤破裂に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Our study shows the expression of COX-2 in the cerebral aneurysm (CA) wall and suggests that this protein is involved in CA pathogenesis. Chronic inflammation due to COX-2 expression is thought to be the main cause of CA rupture, and our study suggests the possibility for medically treating unruptured CAs with a COX-2 inhibitor. In future, the administration of specific prostanoids receptor inhibitors could become the first-choice therapy for patients with unruptured CAs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：脳神経外科

キーワード：シクロオキシゲナーゼ・脳動脈瘤

## 1. 研究開始当初の背景

（1）脳動脈瘤の発生、増大の機序には、さまざまな要因が挙げられているが、現時点では明らかにされていない。しかし近年 interleukin-1 $\beta$ 、Tumor necrosis factor- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B などの関与が報告され、動脈瘤壁へのマクロファージの浸潤、炎症反応がその一因となっていると考えられている。

（2）これまで、我々は脳虚血の病態・治

療の研究を行ってきており、十分な動物実験の経験、設備を有している。また、代表研究者は虚血性神経細胞死の機序として、プロスタグランジン（PG）受容体の一つである、EP1 受容体の関与を報告している。シクロオキシゲナーゼ 2（COX-2）は、炎症性のサイトカイン等により誘導される PG

産生の律速酵素である。COX-2 により産生される PG のうち PGE<sub>2</sub> は発熱、発痛、血管透過性亢進、白血球遊走などに関与する。PGE<sub>2</sub> は EP1 受容体から EP4 受容体まで4つのサブタイプに分けられる受容体と結合し、上記を含めた様々な生理機能を惹起する。以上のことにより、我々は脳動脈瘤の発生、増大、破裂などの病態に COX-2 - PGE<sub>2</sub> - EP 受容体の系の関与を考え研究を着想した。

(3) 人の腹部大動脈瘤の組織では、ほとんどの症例で動脈瘤壁にマクロファージが浸潤し、COX-2 及び PGE<sub>2</sub> の発現が増大し、EP4 受容体の存在も証明されている。また COX-1、COX-2 の非特異的阻害剤である非ステロイド性消炎鎮痛剤にて動脈瘤の増大が抑えられたことが臨床データで報告されている。また、動脈瘤の発生と COX-2 の関与が実験モデルで示されている。

(4) また、近年脳動脈瘤の増大に matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) の関与が報告されている。*in vitro* モデルにて、マクロファージに発現した COX-2 により誘導された PGE<sub>2</sub> が、EP4 受容体を活性化することにより MMP-9 の発現が上昇するという結果も示されており、脳動脈瘤の発生、増大にこの経路が関与していることも推測される。

(5) 以上により、脳動脈瘤の病態には COX-2 の発現、PGE<sub>2</sub> の産生、EP 受容体の活性化が関与していると推察される。

## 2. 研究の目的

(1) ヒト脳動脈瘤組織に、COX-2, PGE<sub>2</sub>, EP 受容体の存在を証明する。

(2) 破裂症例と未破裂脳動脈瘤の症例の免疫染色所見を検討することにより、どの因子が脳動脈瘤発生、増大に関与しているかを明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 脳動脈瘤に COX-2, EP 受容体, MMP-9 の存在を確認する。

(2) 破裂、未破裂脳動脈瘤で各受容体の発現、局在の比較検討を行う。

(3) コントロールとして、浅側頭動脈、中大脳動脈のサンプルも同様に検討する。

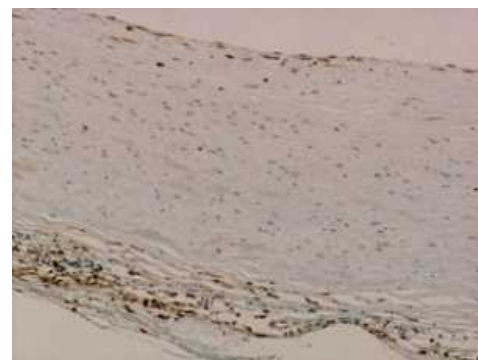
## 4. 研究成果

(1) 未破裂脳動脈瘤 7 例、破裂脳動脈瘤 8 例の計 15 例の動脈瘤サンプルを免疫染色に供した。

(2) また、6 例の浅側頭動脈、3 例の中大脳動脈、2 例の前大脳動脈も同様の免疫染色に供し正常コントロールとした。

(3) 未破裂脳動脈瘤群、破裂脳動脈瘤群、コントロール群それぞれで年齢、BMI、動脈瘤のサイズに有意差を認めなかった。

(4) 動脈瘤 14 例中 12 例に MΦ の浸潤を認めた (図 1)。

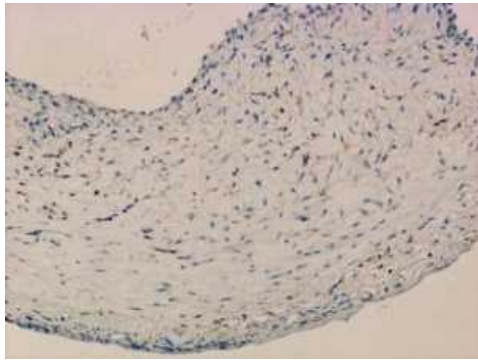


(図 1 破裂動脈瘤 CD68 免疫染色)

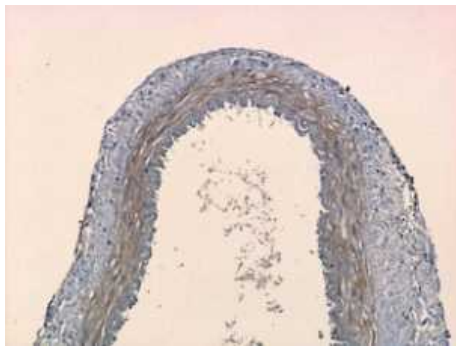
全体的に未破裂脳動脈瘤では CD68 の染色性は低く、浸潤がない 2 例は未破裂動脈瘤であった。

コントロール群では、浅側頭動脈 1 例にのみ MΦ の浸潤を認めた。コントロール群で

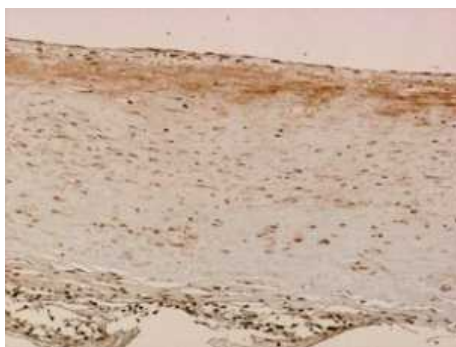
中膜に全周性のCOX-2の染色を認めたが(図3)、動脈瘤ではその構造が失われていた。



(図2 未破裂脳動脈瘤 CD68 免疫染色)  
しかし動脈瘤の内膜には、COX-2の発現が14例中11例に見られた。破裂例では全例で認められ、染色性も強かった(図4)。

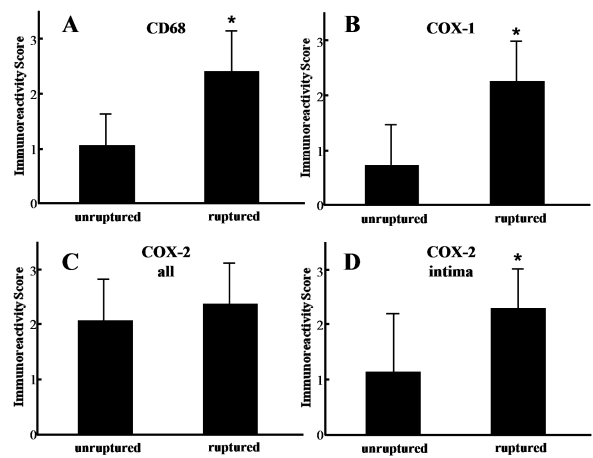


(図3 浅側頭動脈 COX-2 免疫染色)



(図4 破裂脳動脈瘤 COX-2 免疫染色)  
全症例、浸潤したMΦと同様の部位にはCOX-1およびCOX-2の発現が認められた。CD68、COX-1、COX-2の免疫染色性をスコア化し破裂、未破裂脳動脈瘤でそれぞれグラフにすると図5のようになった。  
破裂脳動脈瘤では、CD68、COX-1の免疫染色

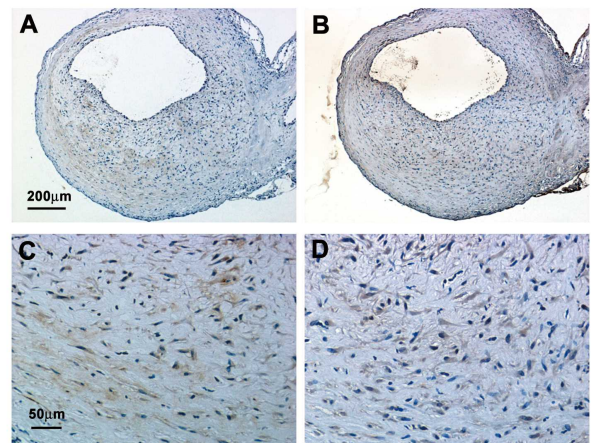
性が有意に高く、intimaの部分に着目するとCOX-2の免疫染色性が破裂脳動脈瘤で有意に高い結果であった。



(図5 免疫染色スコア)

さらにCOX-2により誘導された、PGE2がEP受容体を活性化することによりMMP-9が産生されるという報告がある。MMP-9は細胞外マトリックスを傷害し、動脈瘤壁の脆弱性にかかわっているものと考えられている。

図6はA、CがCOX-2の免疫染色で、B、DがMMP-9の免疫染色である。連続切片で検討すると、それぞれの細胞内の局在、動脈瘤壁内での局在などの染色性が非常に近いものと考えられた。



(図6 MMP-9 免疫染色)

以上の結果より、動脈瘤の発生、増大の機序として、血管壁へのMΦ浸潤、COX-1、COX-2産生が関与していると考えられた。また、COX-2の内膜への発現は動脈瘤破裂に関与し

ている可能性が示唆された。さらに、COX-2 と MMP-9 の関係が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 3 件)

(1) Takayuki Kawano, Cyclooxygenase is involved in the pathogenesis of cerebral aneurysm in human. Immunohistochemical analysis. European Stroke Conference 2010, 27 May 2010, Barcelona, Spain

(2) 河野隆幸、脳動脈瘤の病態に関する免疫組織学的検討：シクロオキシゲナーゼの関与について、日本分子脳神経外科学会、2009年9月19-20日、岡山コンベンションセンター

(3) 河野隆幸、脳動脈瘤の病態に関する免疫組織学的検討：シクロオキシゲナーゼの関与について、日本脳神経外科学会総会、2010年10月27-29日、福岡市

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

河野 隆幸 (KAWANO TAKAYUKI)  
熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号：50448536

##### (2) 研究分担者

倉津 純一 (KURATSU JUNICHI)  
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：20145296

森岡 基浩 (MORIOKA MOTOHIRO)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：20295140

矢野 茂敏 (YANO SHIGETOSHI)

熊本大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：60332871