

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390344

研究課題名(和文) 脳動脈瘤破裂の分子機構と薬物制御

研究課題名(英文) Molecular mechanisms underlying the rupture of cerebral aneurysms and the pharmacological regulation

研究代表者

永廣 信治(NAGAIRO, Shinji)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：60145315

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円

研究成果の概要(和文)：我々の開発した動物モデルにメチオニンを負荷することにより、動脈瘤の破裂時期が早まることや、特に前交通動脈(AcomA)や後交通動脈(P-comA)の血管壁が影響を受けやすくなることを見出した。本研究については葉酸投与により破裂が抑制されることを示し、そのメカニズムとして抗酸化作用や、細胞外マトリックスの崩壊抑制作用を見出し、論文化に向けて準備を進めている。

研究成果の概要(英文)：Subarachnoid hemorrhage is a catastrophic event and directs to high mobility and bad prognosis. To prevent this event, it is required to verify the pathogenesis. Hemodynamic stress is one of the initiating factors for cerebral aneurysmal formation. We hypothesized that additive hemodynamic change accelerates the development of aneurysms and studied the hypothesis. Ten-week-old Sprague-Dawley female rats were additively occluded in Rt.PPA and Rt.ECA. Their rupture incidence and the rupture rate were increased. The development of aneurysms at the circle of Willis may be partly attributable to hemodynamic change. Using this model we will study the efficacy of pharmacological treatment such as telmisartan, eplerenone or cilostazol. On the other hand, we started the clinical studies to assess the pharmacological treatment of cerebral aneurysms.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：脳・神経 脳血管病 エストロゲン 脳動脈瘤破裂 血行動態変化 高血圧

## 1. 研究開始当初の背景

脳動脈瘤は破裂するとくも膜下出血を発症し、致命的な状態を引き起こす。現在、未破裂脳動脈瘤が発見された場合の破裂予防策としては外科的処置しかなく、有効な薬物治療は開発されていない。

我々は脳動脈瘤が閉経期の女性に多いという疫学的事実を基に、卵巣摘出ラットによる独自の脳動脈瘤モデルを確立した。この脳動脈瘤は前大脳動脈 - 嗅動脈 (ACA-OA) 分岐部に再現性よく発現する。このモデルを用いた脳動脈瘤の発生に関する内皮細胞機能低下や血管壁の不安定化機序などの研究 (*J Neurosurgery*, 2005, 2007) は我々のオリジナルであり、国内外に例はない。また薬理作用の異なる薬物 (17 $\beta$ -estradiol によるホルモン補充療法; *J Neurosurgery*, 2007、アンジオテンシン II タイプ 1 受容体拮抗薬 candesartan; *J Hypertension*, 2009、選択的ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬 eplerenone; *Hypertension*, 2009、phosphodiesterase 阻害剤 ibudilast; *Neurosurgery*, 2010) を用いて脳動脈瘤形成抑制効果を実証した。一方、スタチンは抗動脈硬化作用を有し、雄性ラットでは脳動脈瘤抑制に奏効すると報告されているが、卵巣摘出ラットでは、低用量では抗炎症・抗酸化作用を示すにもかかわらず、驚くべきことに高用量では脳動脈瘤の増大や破裂が認められ、この増悪作用に apoptosis 誘導作用が関与することが示唆された

(*Stroke* 2011)。また破裂部位は動脈瘤形成が高頻度に見られる ACA-OA 分岐部と異なる前交通動脈 (A-com、図 1B,C) や後交通動脈分岐部 (P-com) での破裂が散見された。現在、生理的な条件下での脳動脈瘤破裂モデルは確立されておらず、脳動脈瘤増大・破裂の発生部位や病態の詳細な解析は行われていない。

そこで、新たに破裂モデル動物を確立し、

薬物を用いて破裂予防効果の評価を行い、治療のターゲットを明らかにする必要があると考えた。現在、従来の脳動脈瘤モデルを改良し、脳動脈瘤の形成・増大および破裂率の増加を確認している。なお破裂した動脈瘤はほぼ全て A-com と P-com の動脈瘤であった。これは日本における未破裂動脈瘤の大規模な臨床観察研究の Unruptured Cerebral Aneurysm Study Japan (UCAS Japan) の中間発表による破裂しやすい部位とも一致していた。

## 2. 研究の目的

脳動脈瘤破裂の病態解析を行うと同時に破裂を予防する治療薬の発見や臨床への応用を計画するため、以下を明らかにしていく。

## 3. 研究の方法

脳動脈瘤破裂の病態解明のため、脳動脈瘤破裂モデルを新たに開発あるいは開発されたモデル動物を用いて、動脈瘤の経時的な変化や出血の有無を MRI, MRA などの画像解析でモニターし、最終的に脳動脈瘤壁の分子動態を調べることにより、動脈瘤が破裂にいたる分子機序と病態を明らかにする。さらに脳動脈瘤の破裂に対する薬物の予防効果を調べ、治療のターゲットを明らかにし、臨床応用を目指す。

- (1) 破裂モデルの確立、病態解明
- (2) マウス脳動脈瘤モデルでの脳動脈瘤の病態解明と薬効評価
- (3) 脳動脈瘤破裂モデルにおける eplerenone による増大・破裂抑制作用と効果に寄与する分子機構の解明
- (4) マウスを用いた脳動脈瘤破裂抑制効果の評価
- (5) マウスを用いた脳動脈瘤破裂メカニズムの解明
- (6) 大規模臨床試験を開始する。

## 4. 研究成果

脳動脈瘤は破裂するとくも膜下出血を発

症し、致命的な状態を引き起こす。現在、有効な薬物治療は開発されていない。その理由として臨床に即した生理的な条件下での脳脈瘤破裂モデルは確立されておらず、脳動脈瘤増大・破裂の発生部位や病態の詳細な解析は行われていない。そこで、臨床症例を模倣した破裂モデル動物を新たに確立し、薬物を用いて破裂予防効果の評価を行い、治療のターゲットを明らかにする必要があると考え、本研究を行ってきた。卵巣摘出の雌性ラットにおいては塩分負荷によって、血圧に影響なく、動脈瘤形成頻度が上昇しており、このメカニズムとして体内に貯留される water-free Na の蓄積が関係することを明らかにしており (Hypertension. 2012; 60: 1309-1315) この脳動脈瘤モデルに高血圧を誘導すると、動物においてもヒトの脳動脈瘤の好発部位である前交通動脈や後交通動脈領域の血管壁で脳動脈瘤の増大および破裂が見られることを確認していた。またこれらの血管壁において、細胞外マトリックスの崩壊が進行しており、アポトーシスの誘導が促進されていることを新たに見出した。またこのモデルにメチオニンを負荷することにより、動脈瘤の破裂時期が早まることや、特に前交通動脈( AcomA )や後交通動脈( P-comA )の血管壁が影響を受けやすくなることを見出した。本研究については葉酸投与により破裂が抑制されることを示し、そのメカニズムとして抗酸化作用や、細胞外マトリックスの崩壊抑制作用を見出し、論文化に向けて準備を進めている。

一方、さらに改良を加えて、短期間で動脈瘤の破裂頻度と再現性を上げるために、血流動態変化や薬剤による血管壁の刺激による検討を行ってきた。その結果、我々の確立している動脈瘤形成モデルに血行動態変化をさらに負荷することで動脈破裂頻度と破裂率が増加するモデルを作製可能とな

った。このモデルでは動脈瘤形成頻度は ACA-OA 分岐部が 80 - 90%と高いが、この部位では破裂が見られない。他方、破裂部位の前交通動脈や後交通動脈では動脈瘤形成頻度は約 50%と低いが、破裂の発生頻度としては 30 - 40%に増加し、破裂率は約 90%となった。また破裂部位は臨床の発生部位と類似しており、同一モデルで未破裂動脈瘤と破裂動脈瘤の病態を解析できる可能性があることから、このモデルを薬物の評価を行うための動脈瘤破裂モデルと決定した。このモデルを用いて現在エストロゲン受容体刺激薬 Bazedoxifene acetate の治療効果を検証しており、順次、eplerenone、phosphodiesterase 阻害剤、ARB の *ニルミカタン* について有効性を調べる予定である。また完成した破裂モデルについての論文化に向けて準備中である。

さらに歯周病菌の脳動脈瘤への予備検討を行い、破裂頻度を増加させることを見出し、再現性を検討すると同時に臨床での検討を歯学部との共同研究として開始している。また未破裂脳動脈瘤を有する患者に対する薬物療法の臨床応用の可能性を検討するため、降圧剤を用いて高血圧症例の未破裂脳動脈瘤患者に対しての有効性を解析中である。米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校 (UCSF) 脳血管研究センターおよびトロント大学キナ研究センターとの共同研究は継続しており、年 1 - 2 回の合同会議を開催して、研究に対する討論を行う中で若手研究者の育成にも努めている。

#### 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)

[雑誌論文](計 9 件)

- 1) Shimada K, Tada Y, Kitazato KT, Nagahiro S, Hashimoto T. et al. Protective role of peroxisome proliferator- activated receptor-

- in the development of intracranial aneurysm rupture. Stroke 2015 April 2 in press 査読あり、DOI: 10.1161
- 2) Shimada K, Tada Y, Kitazato KT, Nagahiro S, Hashimoto T. et al. Angiotensin-(1-7) protects against the development of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in mice. J Cereb Blood Flow Metab. 2015 Mar 11 in press 査読あり、DOI: 10.1038
  - 3) Nakajima N, Nagahiro S, Satomi J, Tada Y, Nakajima K, Sogabe S, Hanaoka M, Matsubara S, Uno M, Satoh K. Prevention of Retrograde Blood Flow Into Large or Giant Internal Carotid Artery Aneurysms by Endovascular Coil Embolization with High-Flow Bypass: Surgical Technique and Long-Term Results. World Neurosurg. 2015 Feb 11 in press 査読あり
  - 4) Tada Y, Shimada K, Kitazato KT, Nagahiro S, Lawton MT, Hashimoto T. et al. Roles of estrogen in the formation of intracranial aneurysms in ovariectomized female mice. Neurosurgery. 2014; 75: 690-695; 査読あり
  - 5) Etminan N, Kasuya H, Lawton MT, Nagahiro S, Macdonald RL. et al Multidisciplinary consensus on assessment of unruptured intracranial aneurysms: proposal of an international research group. Stroke. 2014; 45: 1523-1530 査読あり
  - 6) Tada Y et al. Role of hypertension in the rupture of intracranial aneurysms. Stroke, 45:579-586, 2014 査読あり
  - 7) Uehara T, Kimura K, Okada Y, Hasegawa Y, Tanahashi N, Suzuki A, Takagi S, Nakagawara J, Arii K, Nagahiro S, Ogasawara K, Nagao T, Uchiyama S, Matsumoto M, Iihara K, Minematsu K. Factors associated with onset-to-door time in patients with transient ischemic attack admitted to stroke centers. Stroke. 2014;45:611-613. 査読あり
  - 8) Terasawa Y, Yamamoto N, Morigaki R, Fujita K, Izumi Y, Satomi J, Harada M, Nagahiro S, Kaji R. Brush sign on 3-T T2\*-weighted MRI as a potential predictor of hemorrhagic transformation after tissue plasminogen activator therapy. Stroke. 2014; 45: 274-276. 査読あり
  - 9) Tada Y, Shimada K, Kitazato KT, Kanematsu Y, Nagahiro S, Hashimoto T. et al. Estrogen protects against intracranial aneurysm rupture in ovariectomized mice, Hypertension. 2014; 63: 1339-1344 査読あり
- 〔学会発表〕(計 8 件)
- 1) Korai M, Kitazato KT, Miyamoto T, Shimada K, Yagi K, Tada Y, Kurashiki Y, Kuwayama K, Satomi J, Nagahiro S, 2015 Role of hyperhomocysteinemia in the development of intracranial aneurysms. International Stroke Conference, February 10-12, 2015 in Nashville, USA
  - 2) Miyamoto T, David K. Kung, Korai M, Kitazato KT, Shimada K, Yagi K, Tada Y, Kurashiki Y, Kuwayama K, Satomi J, Nagahiro S, Hemodynamic change elicits the formation and rupture of

- experimental cerebral aneurysms, 2015 International Stroke Conference, February 10-12, 2015 in Nashville, USA
- 3) Kurashiki Y, Kitazato K, Uto Y, Yagi K, Shimada K, Miyamoto T, Sumiyoshi M, Tada Y, Kuwayama K, Satomi J, Nagahiro S. Is the regulation of M1 macrophage activation beneficial in the acute phase of post cerebral ischemia? 2015 International Stroke Conference, February 10-12, 2015 in Nashville, USA
- 4) Tada Y., Makino H., Wada K., Shimada K., Liang E., Murakami S., Kudo M, Kitazato KT., Nagahiro S., Hashimoto T. Protective effects of estrogen receptor-beta against the formation of intracranial aneurysms in mice. 99th World Stroke Congress, October 22 - 25 2014, Istanbul, Turkey,
- 5) K.Shimada, K.Wada, H.Furukawa, Y.Weii, Y.Tada., A.Kuwabara, F.Shikata, K.T.Kitazato, S.Nagahiro. T.HashimotoC, Role of Angiotensin-(1-7) on intracranial aneurysm rupture, 9th World Stroke Congress, October 22 - 25 2014, Istanbul, Turkey,
- 6) Kurashiki Y, Kitazato K<sup>1</sup>, Uto Y, Yagi K, Shimada K, Miyamoto T<sup>1</sup>, Sumiyoshi M, Tada Y, Kuwayama K, Satomi J, Nagahiro S. Activation of M2 macrophage in the late phase after cerebral ischemia promotes the expression of neurogenesis related molecules. 9th World Stroke Congress, October 22 - 25 2014, Istanbul, Turkey,
- 7) Miyamoto T, David K. Kung, Korai M, Kitazato KT, Shimada K, Yagi K, Tada

Y, Kurashiki Y, Kuwayama K, Satomi J, Nagahiro S, Hemodynamic changes may elicit the formation and rupture of experimental cerebral aneurysms. 9th World Stroke Congress, October 22 - 25 2014, Istanbul, Turkey,

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

### 受賞

1) 日本脳神経外科学会, 大阪、2013. 10. 奨励賞 松下展久

2) 2013 国際脳卒中学会, Hawaii, USA、2014. 2. 若手研究者賞 多田恵曜

3) 日本脳神経外科学会, 東京、2014. 10. 特別賞 多田恵曜

### 6. 研究組織

#### (1)研究代表者

永廣 信治 (NAGAIRO, Shinji)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・教授  
研究者番号：6 0 1 4 5 3 1 5

#### (2)研究分担者

里見 淳一郎 (SATOMI, Junichiro)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・准教授  
研究者番号：1 0 3 0 4 5 1 0

多田 恵曜 (TADA, Yoshiteru)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・助教  
研究者番号：3 0 5 4 7 9 6 4

桑山 一行 (KUWAYAMA, Kuyuki)  
徳島大学・病院・講師  
研究者番号：5 0 6 1 4 2 3 6

森垣 龍馬 (MORIGAKI, Ryoma)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・特任助教  
研究者番号：7 0 7 1 0 5 6 5