

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04949

研究課題名(和文) 脳動脈瘤の細胞分子イメージング法の確立と非外科的治療法開発

研究課題名(英文) Development of cell and molecular imaging and possible medical treatment for cerebral aneurysms

研究代表者

野崎 和彦 (Nozaki, Kazuhiko)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：90252452

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：くも膜下出血の多くは脳動脈瘤破裂により発症し予後不良であるが、脳動脈瘤が発生増大し破裂に至る分子機構は未だ十分には解明されておらず、外科治療が行われている。外科治療のリスクを考慮すると非外科的治療の開発が望まれるが、有効な薬物治療は存在しない。本研究において、ラット、サル脳動脈瘤モデルを用いた解析システムの開発と改変、脳動脈瘤形成から破裂に至る各段階での脳動脈瘤壁内の細胞群および遺伝子発現の経時的変化、脳動脈瘤形成から破裂に至る各段階でのMR画像によるイメージング追跡、未破裂脳動脈瘤発生増大破裂に対する薬物治療の候補の選定を行った。

研究成果の概要(英文)：Cerebral aneurysms (CAs) is a common disease in general public with prevalence between 1% and 5%, and subarachnoid hemorrhage (SAH) mostly caused by rupture of CAs is still a serious disease. In this project, we established and modified rat and monkey cerebral aneurysmal models including a rupture model, analyzed critical cell and molecular candidates for cerebral aneurysmal development, tried to develop MR imaging systems using specific contrast medium for detection of rupture-prone cerebral aneurysms and set a live imaging to observe a real-time alteration in rat cerebral aneurysms. We also tested several possible medical treatments to stabilize cerebral aneurysms in animal models.

研究分野：neurosurgery

キーワード：cerebral aneurysm animal model MR imaging medical treatment

1. 研究開始当初の背景

くも膜下出血は、高率な死亡率と後遺症率を有する重篤な疾患であり、生産年齢層に好発することから社会的損失も少なくない。近年、未破裂脳動脈瘤の症例が急増しているが、現時点での未破裂脳動脈瘤の治療は、侵襲を伴う外科的治療（脳動脈瘤クリッピング術ないしは血管内手術によるコイル塞栓術）のみで、患者および社会的負担も大きい。本研究では脳動脈瘤の発生増大破裂における血管壁の炎症反応の関わりをマウス、ラット、サルにおいてさらに進め、臨床研究遂行のための基礎データを蓄積し、脳動脈瘤破裂に至る機構の解明と新規治療法の確立を目指す。

2. 研究の目的

くも膜下出血の多くは脳動脈瘤破裂により発症し予後不良であるが、脳動脈瘤が発生増大し破裂に至る分子機構は未だ十分には解明されておらず、外科治療が行われている。外科治療のリスクを考慮すると非外科的治療の開発が望まれるが、有効な薬物治療は存在しない。本研究は、われわれが先に開発した脳動脈瘤モデル（マウス、ラット、サル）を用い、脳動脈瘤発生増大破裂の分子機構を主に炎症カスケードに關与する因子につき、遺伝子、蛋白レベルで解析し、生体内細胞分子イメージング追跡を用いて明らかにし、解明された分子機構を用いた脳動脈瘤の発生増大破裂に対する新規薬物治療法を確立することを目標としている。

3. 研究の方法

(1) マウス、ラット、ラビット、サル脳動脈瘤モデルを用いた解析システムの確立

先行研究(基盤研究B:平成21~23年 研究代表者 野崎)で行ってきた小動物での組織学的、分子生物学的解析、それに続く研究(基盤研究B:平成24~26年 研究代表者 野崎)で行ってきたラット、マウス、サル脳動脈瘤モデル (Hashimoto N et al J Neurosurg 67:903-905,1987)でのMRを用いた画像解析をさらに発展させ、脳動脈瘤の発生増大破裂に關わる主要因子をMR画像イメージングにより追跡することを目標とする。また、くも膜下誘発モデルの開発として、マウス、ラット、サルで血圧負荷、血行力学的負荷、炎症負荷を増加させることで、直接血管損傷を起こすことなく脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血を高率に起こすモデル動物の確立を目指す。

(2) 脳動脈瘤形成から破裂に至る各段階での脳動脈瘤壁内の細胞群における遺伝子蛋白発現

遺伝子解析から得られたデータをもとに、特に脳動脈瘤壁の主な構成細胞である内皮細胞、平滑筋細胞、マクロファージの各細胞に対して laser-micro dissection 法を用い、脳動脈瘤発生の各段階において、それぞれの

細胞群における遺伝子発現および発現蛋白解析を次世代シーケンサー法、定量的RT-PCR法、microarray法、組織学的検査などを用いて行う。

(3) 脳動脈瘤形成から破裂に至る各段階でのMR画像によるイメージング追跡とマーカー検索

先行研究(基盤研究B:平成21~23年 研究代表者 野崎、基盤研究B:平成24~26年 研究代表者 野崎)で設定した、7T-MRを用いた撮像条件の精度をさらに向上させるとともに、新たに導入されるサル用4.5T-MRを用いたコイル構築と撮像条件設定を行う。ラット、マウス、サルの脳動脈瘤の画像追跡と分子マーカーの発現変化を検討し、脳動脈瘤が発生増大破裂する過程を1つの生体を用いて追跡し、脳動脈瘤の各段階における画像変化、分子イメージング変化を捉える。

(4) 未破裂脳動脈瘤発生増大破裂に対する薬物治療に関する研究

これまでにラット、マウスモデルにおいて得られた知見がヒトに応用できるかどうかを検討するために、ラット、マウスにおいてさらに知見を集めつつ、ラット、マウス、サル破裂モデルにおける予防効果を検討し、最終的には確立したラビット、サルのモデルを用いて、炎症に關する因子の発現を遺伝子、蛋白レベルで検討し、薬物治療の効果につき判定する。

4. 研究成果

(1) マウス、ラット、ラビット、サル脳動脈瘤モデルを用いた解析システムの確立

本研究では主としてラット、サルにおいて脳動脈瘤モデルの開発を行った。我々が以前に確立したほぼ100%の個体で脳動脈瘤を発症するがその動脈瘤は破裂しないモデル動物 (Hashimoto. Surg Neurol. 10:3, 1978)、及び脳動脈瘤の自然破裂が高率に誘発できるモデル動物 (Korai. J Neuroinflammation 13:165, 2016)を用い、脳動脈瘤破裂に至る病態の解析を行った。決して破裂しないことが判明している前大脳動脈 嗅動脈分岐部に発生した脳動脈瘤と50-60%程度が破裂するいわゆる rupture-prone aneurysm(前ないし後交通動脈に発生)の二種類の病変を解析対象とし、脳血流情報、リアルタイム動態の解析を行った。これまでに我々はカニクイザルにおいて脳動脈瘤誘発モデル (Hashimoto. J Neurosurg. 67:903, 1987)を報告しているが改良すべき点がある。本研究では、血圧上昇、血行力学的負荷、エストロゲン低下の観点からこのサルモデルを改良することにより脳動脈瘤発生率を上げることが計画した。サ

ルにおける侵襲度の低い血管画像評価法として、頭部 MRI 及び造影 CT を用い脳血管の描出を試みた。

(2) 脳動脈瘤形成から破裂に至る各段階での脳動脈瘤壁内の細胞群における遺伝子蛋白発現

ラット脳動脈瘤モデルを用い、脳動脈瘤の各部位における蛋白発現、関与細胞の解析を行い、特にマクロファージの関与を再確認した。また T 細胞については脳動脈瘤発生増大には関与していないことを証明した。また、脳動脈瘤形成増大過程におけるプロスタグランジン E 受容体の関与を証明した。

(3) 脳動脈瘤形成から破裂に至る各段階での MR 画像によるイメージング追跡とマーカー検索

ラット脳動脈瘤モデルを用い、マクロファージの可視化のために Ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide (USPIO) の 1 つである Ferumoxytol® を用いた脳動脈瘤壁のマクロファージの浸潤の解析を行った。Ferumoxytol® が脳動脈瘤形成において重要な働きを示すマクロファージに取り込まれることを確認した。

(4) 未破裂脳動脈瘤発生増大破裂に対する薬物治療に関する研究

ラット、サルの脳動脈瘤モデルにおいて、プロスタグランジン E 受容体、炎症抑制剤 (未公表) が脳動脈瘤形成を抑制することの治験を得た。

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)

[雑誌論文](計 8 件)

1. Yamamoto R, Aoki T, Koseki H, Fukuda M, Hirose J, Tsuji K, Takizawa K, Nakamura S, Miyata H, Hamakawa N, Kasuya H, Nozaki K, Hirayama Y, Aramori I, Narumiya S
A S1P1 agonist, ASP4058, suppresses intracranial aneurysm through promoting endothelial integrity and blocking macrophage transmigration.

Br J Pharmacol 174:2085-2101, 2017
doi: 10.1111/bph.13820. Epub 2017 May 27

2. Miyata H, Koseki H, Takizawa K, Kasuya H, Nozaki K, Narumiya S, Aoki T.

T cell function is dispensable for intracranial aneurysm formation.

PLoS One 12:e0175421, 2017

doi: 10.5387/fms.2016-22. Epub 2017 Apr 15

3. Aoki T, Frosen J, Fukuda M, Bando K, Shioi G, Tsuji K, Ollikainen E, Nozaki K, Laakkonen J, Narumiya S.

Prostaglandin E2-EP2-NF-κB signaling in macrophages as a potential therapeutic target for intracranial aneurysm.

Science Signaling 10:eaah6037, Feb 7, 2017
doi: 10.1126/scisignal.aah6037

4. Aoki T, Saito M, Koseki H, Tsuji K, Tsuji A, Murata K, Kasuya H, Morita A, Narumiya S, Nozaki K for MR macrophage imaging study investigators

Macrophage imaging of cerebral aneurysms with ferumoxytol: an exploratory study in an animal model and in patients.

J Stroke Cerebrovasc Dis 26:2055-2064, 2017
doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.10.026. Epub 2017 Jul 31

5. Aoki T, Nozaki K

Preemptive medicine for cerebral aneurysms
Neurol Med Chir (Tokyo) 56:552-568, 2016

doi: 10.2176/nmc.st.2016-0063. Epub 2016 Apr 6
6. Yokoi T, Saito M, Yoshimura Y, Tsuji K, Nozaki K

Cerebral aneurysms and inflammation.
Neuroimmunology and Neuroinflammation 2:55-58, 2015

7. 野崎和彦

脳動脈瘤モデルを用いた治療法の開発
脳循環代謝 26:107-112, 2015

8. 野崎和彦

脳動脈瘤増大破裂のリスク評価
脳循環代謝(印刷中)

[学会発表](計 8 件)

1. 野崎和彦

脳動脈瘤の基礎と臨床

第 47 回久留米大学医学部脳神経外科学講座開

講記念会・同門会

平成 29 年 11 月 25 日 久留米

2. 辻敬一、横井俊浩、中村紳一郎、野崎和彦
当施設における霊長類脳動脈瘤モデル確立のための試み

日本脳神経外科学会第 76 回学術総会
平成 29 年 10 月 12 日、名古屋

3. 宮田悠、野崎和彦
脳動脈瘤形成増大における T 細胞機能
第 42 回日本脳卒中学会学術集会
平成 29 年 3 月 16 日、大阪

4. 野崎和彦
未破裂脳動脈瘤の質的診断法開発に向けて - マ
クロファージイメージングの可能性 -
第 25 回日本脳ドック学会総会
平成 28 年 6 月 9 日 軽井沢

5. 辻敬一、横井俊浩、中村紳一郎、青木友浩、
野崎和彦

カニクイザル脳動脈瘤モデル確立のための新たな試み
第 41 回日本脳卒中学会
平成 28 年 4 月 14 日、札幌

6. Nozaki K
Possible medical treatments for cerebral
aneurysms.

11th Asian Congress of Neurological Surgeons
(ACNS) 2016 in conjunction with the 21st
Annual Scientific Meeting of Indonesian
Society of Neurological Surgeons (PERSPEBSI)
2016.3.10-12 Surabaya, Inodonesia

7. 野崎和彦
未破裂脳動脈瘤の先制医療
第 74 回日本脳神経外科学会学術総会
平成 27 年 10 月 15 日 札幌

8. 辻敬一、野崎和彦
慢性炎症疾患としての未破裂脳動脈瘤の位置づけとそこから見えてきた新規薬物治療法開発への展望

第 74 回日本脳神経外科学会学術総会
平成 27 年 10 月 15 日 札幌

〔図書〕(計 1 件)

1. 青木友浩、野崎和彦、三輪書店、脳動脈瘤

の発生と破裂の分子生物学的メカニズム、ブ
ライム脳神経外科 1 「脳動脈瘤」(木内博
之 監修、編集、斉藤延人 監修)、p5-11 2016

〔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
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野崎 和彦 (NOZAKI, Kazuhiko)
滋賀医科大学・医学部・教授
研究者番号: 90252452

(2) 研究分担者

地藤 純哉 (JITO, Junya)
滋賀医科大学・医学部・助教
平成 28 年より非常勤講師
研究者番号: 50534161

横井 俊浩 (YOKOI, Toshihiro)
滋賀医科大学・医学部・助教
研究者番号: 20573182

椎野 顕彦 (SHIINO, Akihiko)
滋賀医科大学・神経難病研究センター・准
教授
研究者番号: 50215935

中村 紳一郎 (NAKAMURA, Shinichiro)
滋賀医科大学・動物生命科学研究センタ
ー・准教授
研究者番号: 50307980

(3) 連携研究者

青木 友浩 (AOKI, Tomohiro)
京都大学大学院医学研究科研究員
研究者番号: 40633144

(4) 研究協力者

辻 敬一 (TSUJI, Keiichi)
宮田 悠 (MIYATA, Haruka)