

令和元年6月18日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10966

研究課題名(和文) Neurovascular Unitに着目したくも膜下出血の全身管理と病態の解明

研究課題名(英文) Development of systemic management after subarachnoid hemorrhage focusing on cerebral microcirculation

研究代表者

武藤 達士 (Mutoh, Tatsushi)

東北大学・加齢医学研究所・准教授

研究者番号：80462472

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：くも膜下出血の最大の予後増悪因子として遅発性脳虚血が広く知られている。本研究では、DCIの本態として注目されている早期脳損傷とそれに関連した急性期循環障害に着目し、モデル動物を用いた生体イメージングにより病態解明に迫った。研究は小動物用MRI、2光子顕微鏡、超音響共鳴法、高精細超音波エコーを用いて縦断的な検証を行った。その結果、超急性期の循環障害の可視化と心機能障害、mTOR阻害薬の中枢性効果が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、くも膜下出血後の超急性期の脳循環障害と心機能障害を生体イメージングによりneurovascular unitから全脳レベルに至るまで可視化することができた。従来のドプタミンによるhyperdynamic療法が微小循環改善において一定の治療効果があることを証明した。さらにmTOR阻害薬ラパマイシンの中枢性効果をin vivoで明らかにすることができた。さらに当初の研究計画の進捗とそれを踏まえた新たな研究の必要性から、本研究の早期完了と新規課題(18K08880 高齢者くも膜下出血の超急性期病態と認知機能に着目した神経集中治療法の開発)への移行に至った。

研究成果の概要(英文)：Early brain injury and related cardiac consequences play a key role in the devastating outcomes after subarachnoid hemorrhage (SAH). We aimed to evaluate the feasibility of multimodality imaging using MRI, two-photon laser scanning microscopy, high-frequency power Doppler ultrasound imaging in a mouse model of subarachnoid hemorrhage (SAH). Real-time measurements of cerebral blood flow, brain tissue oxygen saturation, and cardiac output (CO) were analyzed. Our in vivo experiments further demonstrated the potential role of the transcription factor STAT3 in the rapamycin-mediated neuroprotection in a mouse model of SAH. We propose that rapamycin is a novel pharmacological strategy to target STAT3 activation for the treatment of post-SAH early brain injury.

研究分野：神経集中治療

キーワード：くも膜下出血 遅発性脳虚血 微小脳循環障害 動物モデル

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

破裂動脈瘤によるくも膜下出血 (subarachnoid hemorrhage; SAH)は、脳卒中による突然死の第一位として知られる救急疾患である。中でも発症から2週以内に約4割の患者で起こりうる遅発性脳虚血(delayed cerebral ischemia; DCI)もしくは脳血管攣縮 (cerebral vasospasm)と総称される病態は、近年の画像診断・検査法の進歩にもかかわらず、発症の予測や有効な治療法すら確立されておらず、約半数が重度後遺症や死亡に至る、SAHの最大の予後増悪因子として広く知られている。

2. 研究の目的

本研究では、脳局所の微小循環障害 (Neuro-Vascular Unit dysfunction)に着目し、SAHモデル動物を用いた生体イメージングの導入により、DCIの病態解明と治療法の洗練化を目的とする。最終的に、これらの基礎研究の結果を踏まえた新たな治療プロトコルを開発し、速やかに臨床の場にフィードバックすることで、くも膜下出血患者の予後改善と治療費の軽減につなげることを大きな目標としている。

3. 研究の方法

研究期間は4年を予定した。データ解析に耐えうる動物の必要数(n)は、統計学的有意差が得られる場合(Type I error)、n=7-10/群が通常であり、本研究でもこれに準じた例数を確保した。

まず、安定したSAHモデルの作成(実験1:平成27年度)と脳MRI撮像法の確立とともに、Closed cranial bone windowによる2光子顕微鏡での生体イメージングの新規実験系の立ち上げ(実験2:平成27年度)を行った。引き続き2年間において、微小血管構造の可視化とHyperdynamic療法の治療効果の解析(実験3:平成28~29年度)に移行することができた。

尚、グリアレベルでの微小循環障害の可視化においては動物の調達が困難であったため、各種薬剤の前投与を組み合わせたプロトコルを作成し、既存のHyperdynamic療法の脳微小循環障害に対する治療機序としてのHypoxia-inducible factorを介した脳保護作用について詳細な検討を行った(実験4:平成29年度中期~30年度)。次に小動物用MRIおよび2光子顕微鏡、光音響共鳴法、高精細超音波エコーを用いた、SAHの脳・心臓に及ぼす影響の検証を行った。その結果、超急性期の循環障害の可視化と心機能障害、mTOR阻害薬の中枢性効果が明らかになった。

4. 研究成果

まず第1に、3D-T2*強調像により、マウスのSAHモデルの重症度分類が可能となった。このことにより、適正な病態モデルにおける治療効果判定が可能となった。さらに、CASL法による脳血流評価と各種神経行動評価を加えることで、ヒトでの機能予後に関連したモデル作成が可能となった。

第2に、2光子顕微鏡を用いた脳表から深部の血管構築のin vivo imagingが可能となり、ドブタミン投与時の血球速度の変化を捉えることができ、その治療機序としての血行力学的な血球速度増加が機能予後に関連していることが明らかとなった。

らかにすることができた。その結果、超急性期の循環障害の可視化と心機能障害、mTOR阻害薬の中枢性効果が明らかになった。

当初の研究計画の進捗とそれを踏まえた新たな研究の必要性から、本研究の早期完了と新規課題(18K08880 高齢者くも膜下出血の超急性期病態と認知機能に着目した神経集中治療法の開発)への移行に至った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 11 件）

- ① Mutoh T, Sasaki K, Yamamoto S, Yasui N, Ishikawa T, Taki Y. Performance of Electrical Velocimetry for Noninvasive Cardiac Output Measurements in Perioperative Patients After Subarachnoid Hemorrhage. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2018 査読有
Jun 22. doi: 10.1097/ANA.0000000000000519. [Epub ahead of print]
- ② Sasaki K, Mutoh T, Yamamoto S, Taki Y, Kawashima R. Utility of electrical velocimetry-based noninvasive stroke volume variation in predicting fluid responsiveness under different ventilation modes in anaesthetized dogs. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2018 May 16. 査読有
doi: 10.1111/1440-1681.12968. [Epub ahead of print]
- ③ Sasaki K, Yamamoto S, Mutoh T, Tsuru Y, Taki Y, Kawashima R. Rapamycin protects against early brain injury independent of cerebral blood flow changes in a mouse model of subarachnoid haemorrhage. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2018 Aug;45(8):859-862. 査読有
doi: 10.1111/1440-1681.12950.
- ④ Mutoh T, Sasaki K, Tatewaki Y, Kunitoki K, Takano Y, Taki Y. Preceding functional tooth loss delays recovery from acute cerebral hypoxia and locomotor hypoactivity after murine subarachnoid haemorrhage. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2018 Apr;45(4):344-348. 査読有
doi: 10.1111/1440-1681.12874. Epub 2017 Dec 14.
- ⑤ Mutoh T, Totsune T, Takenaka S, Tatewaki Y, Nakagawa M, Suarez JI, Taki Y, Ishikawa T. Reduced CBF recovery detected by longitudinal 3D-SSP SPECT analyses predicts outcome of postoperative patients after subarachnoid haemorrhage. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2018 Feb;45(2):127-132. 査読有
doi: 10.1111/1440-1681.12867. Epub 2017 Nov 28.
- ⑥ Sasaki K, Mutoh T, Nakamura K, Kojima I, Taki Y, Suarez JI, Ishikawa T. MRI-based in vivo assessment of early cerebral infarction in a mouse filament perforation model of subarachnoid hemorrhage. *Neurosci Lett.* 2017 Jul 13;653:173-176. 査読有
doi: 10.1016/j.neulet.2017.05.047. Epub 2017 May 24.
- ⑦ Nakagawa M, Mutoh T, Takenaka S, Mutoh T, Totsune T, Taki Y, Ishikawa T. Asymptomatic Mild Hyperperfusion for the Prediction of Clinical Outcome in Postoperative Patients After Subarachnoid Hemorrhage. *Med Sci Monit.* 2017 Jan 17;23:285-291. 査読有
- ⑧ Mutoh T, Mutoh T, Sasaki K, Nakamura K, Tatewaki Y, Ishikawa T, Taki Y. Neurocardiac protection with milrinone for restoring acute cerebral hypoperfusion and delayed ischemic injury after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosci Lett.* 2017 Feb 15;640:70-75. 査読有
doi: 10.1016/j.neulet.2017.01.008. Epub 2017 Jan 6.
- ⑨ Mutoh T, Mutoh T, Nakamura K, Sasaki K, Tatewaki Y, Ishikawa T, Taki Y. Inotropic support against early brain injury improves cerebral hypoperfusion and outcomes in a murine model of subarachnoid hemorrhage. *Brain Res Bull.* 2017 Apr;130:18-26. 査読有
doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.12.009. Epub 2016 Dec 23.
- ⑩ Mutoh T, Mutoh T, Nakamura K, Yamamoto Y, Tsuru Y, Tsubone H, Ishikawa T, Taki Y. Acute cardiac support with intravenous milrinone promotes recovery from early brain injury in a murine model of severe subarachnoid haemorrhage. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017 Apr;44(4):463-469. 査読有
doi: 10.1111/1440-1681.12718.
- ⑪ Mutoh T, Mutoh T, Sasaki K, Nakamura K, Taki Y, Ishikawa T. Value of Three-Dimensional

Maximum Intensity Projection Display to Assist in Magnetic Resonance Imaging (MRI)-Based Grading in a Mouse Model of Subarachnoid Hemorrhage.
Med Sci Monit. 2016 Jun 16;22:2050-5. 査読有

〔学会発表〕（計 0 件）

① 中村和浩, 武藤達士, 佐々木一益, 瀧 靖之, 石川達哉. くも膜下出血モデル動物に関する行動評価指標の検討. 第14 回情報科学技術フォーラム(FIT2015). 愛媛, 2015年9 月15 日.

②中村和浩, 武藤達士, 佐々木一益, 瀧 靖之, 石川達哉. くも膜下出血モデル動物に関するMRI画像評価方法の検討. 第27回日本脳循環代謝学会総会. 富山, 2015年10月30日.

〔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

<http://www.nmr.idac.tohoku.ac.jp/research/>

6. 研究組織

(1)研究分担者: 無し

(2)研究協力者

① 研究協力者氏名: 瀧 靖之

ローマ字氏名: (TAKI, yasuyuki) 10375115

東北大学 加齢医学研究所 教授

② 研究協力者氏名: 局 博一

ローマ字氏名: (TSUBONE, hirokazu) 30142095

東京大学 農学生命科学研究科 特任教授

③ 研究協力者氏名: 石川 達哉

ローマ字氏名: (ISHIKAWA, tatsuya) 10281809

秋田県立脳血管研究センター (研究部

門) 脳神経外科学研究部 部長(副センター長)

④ 研究協力者氏名: 中村 和浩

ローマ字氏名: (NAKAMURA, kazuhiko) 10312638

秋田県立脳血管研究センター (研究部門) 放射線医学研究部 主任研究員

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。