

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19972

研究課題名(和文) 脳動脈瘤形成・破裂に対する選択的エストロゲン受容体作動薬の役割

研究課題名(英文) Role of selective estrogen receptor modulator on the formation and rupture of intracranial aneurysms

研究代表者

多田 恵曜 (TADA, Yoshiteru)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・講師

研究者番号：30547964

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：エストロゲンやエストロゲン受容体作動薬が脳動脈瘤形成および破裂を抑制することを見いだした。しかし、エストロゲン補充療法は子宮体癌や乳癌発生などのリスクがある。選択的エストロゲン受容体作動薬(SERM)は副作用が少ないが、SERMによる脳動脈瘤破裂抑制作用を検討した。雌のラットを用い、高血圧誘導、卵巣摘出、一側脳血管への血行力学的負荷を加えることによって脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血をきたすモデルを確立した。SERMであるバゼドキシフェン酢酸塩を投与すると脳動脈瘤破裂を抑制することを見いだした。さらに、エストロゲン受容体の発現上昇、MMP-9/TIMP-2の低下と関連していることを示した。

研究成果の概要(英文)：Estrogen and estrogen receptor agonist prevented the formation and rupture of intracranial aneurysms in animal models. However, estrogen replacement therapy is associated with side effects such as endometrial- and breast cancer. We tested our hypothesis that bazedoxifene, a clinically used selective estrogen receptor modulator with fewer estrogenic side effects, prevented aneurysmal rupture in our aneurysm model rats. Intracranial aneurysms were induced by hemodynamic stress, hypertension, and estrogen deficiency in female rats. Bazedoxifene prevented aneurysmal rupture without affecting the blood pressure. The protective effects against the aneurysmal rupture of bazedoxifene was associated with the increased expression of estrogen receptors and the decreased in the ratio of the matrix metalloproteinase-9 to the tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression.

研究分野：脳血管障害

キーワード：脳・神経 脳神経疾患 選択的エストロゲン受容体作動薬 脳動脈瘤破裂 くも膜下出血

## 1. 研究開始当初の背景

未破裂脳動脈瘤が発見された場合、脳動脈瘤破裂を予防するためには、開頭脳動脈瘤ネッククリッピング術あるいはコイル塞栓術があるが、侵襲を伴う。しかし、脳動脈瘤破裂予防を目的とした薬物治療はない。我々は雌性ラットに卵巣摘出によるエストロゲン欠乏状態、高血圧、脳血管への血行力学的負荷を加えることによって、脳動脈瘤を誘導しており、オリジナリティが高い。このモデルを用いて、脳動脈瘤形成には血管内皮障害、酸化ストレス、炎症などが関与していることを示し、さまざまな薬物 (17 $\beta$ -estradiol, angiotensin type 1 受容体拮抗薬, mineralocorticoid 受容体拮抗薬, phosphodiesterase 阻害薬) を用いて、脳動脈瘤形成予防効果を示した。また、雌性マウスの脳槽にエラスターゼを単回投与し、高血圧を誘導することによって、高率に脳動脈瘤破裂をきたすモデルにエストロゲン、エストロゲン受容体作動薬が脳動脈瘤破裂を抑制することを報告した。しかし、エストロゲン補充療法は子宮体癌や乳癌発生などの副作用から臨床応用は困難である。選択的エストロゲン受容体作動薬 (SERM) であるバゼドキシフェン酢酸塩 (ビビアント) は副作用も少なく、臨床においても骨粗鬆症に対して安全に使用されている。ビビアントが脳動脈瘤破裂予防に有効であるかは検討されていない。また、脳動脈瘤形成と破裂では機序が異なる可能性が考えられる。そのために脳動脈瘤破裂をきたす動物モデルが必要であると思われた。

## 2. 研究の目的

再現性良く、高頻度に脳動脈瘤破裂をきたす動物モデルを確立する。そのモデルを用いて、選択的エストロゲン受容体作動薬 (SERM) であるビビアントが脳動脈瘤破裂を抑制できるか検討し、その機序についても調べることが本研究の目的である。

## 3. 研究の方法

従来の脳動脈瘤モデル (一側総頸動脈結紮、両側後腎動脈結紮、食塩負荷、両側卵巣摘出によるエストロゲン欠乏状態の誘導) では脳動脈瘤を誘導後、3ヶ月を観察しても脳動脈瘤の破裂率は0%であった。

### (1) 脳動脈瘤破裂モデルの確立

10週齢雌性ラットに上記の如く、脳動脈瘤を誘導するが、さらに脳血管への血行力学的負荷を加えるために、一側の総頸動脈結紮に加え、対側の翼口蓋動脈および外頸動脈の結紮を加えた。

### (2) 脳動脈瘤破裂モデルにSERMであるビビアントを投与する

脳動脈瘤誘導後2週間後より、ビビアント 0.3mg/kg/day, 1mg/kg/day を投与開始し、脳動脈瘤誘導後3ヶ月間投与を継続した。溶媒対照群と脳動脈瘤破裂率を比較検討した。また、卵巣を摘出していない群とも比較した。

### (3) ビビアントの脳動脈瘤破裂抑制に関する機序について検討する

投与開始後3週間で脳血管壁を摘出し、エストロゲン受容体 (ER) と ER の免疫染色、matrix metalloproteinase-9 (MMP-9)/tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) の遺伝子発現について PCR で検討を行った。

## 4. 研究成果

従来の動脈瘤モデルを改変することによって、前交通動脈 (A-com) あるいは Willis 動脈輪後半部で脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血を12週までに50%のラットがきたすモデルを確立した。この脳動脈瘤の破裂率は、卵巣摘出を行っていない群に比べ卵巣摘出によるエストロゲン欠乏状態を誘導すると高率になっていた。ビビアントを投与することに脳動脈瘤破裂は抑制されたが、血圧には影響を与えなかった。脳血管壁を検討すると、ビビアントを投与された群で

は、ER の発現が上昇していた。また、MMP-9/TIMP-2 の発現が低下していた。ビビアントは ER の発現を介して、細胞外マトリックスの崩壊を減じ、脳動脈瘤破裂を抑制していることが示唆された。ビビアントは副作用の少ない薬剤であり、今後臨床応用が期待できると考えられる。現在雄性ラットを用いた脳動脈瘤破裂モデル作成に着手しており、今後性差の詳細な検討も期待できる。

#### 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8件)

- 1) Shimada K, Furukawa H, Wada K, Korai M, Wei Y, Tada Y, Kuwabara A, Shikata F, Kitazato KT, Nagahiro S, Lawton MT, Hashimoto T. Protective Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- in the Development of Intracranial Aneurysm Rupture. Stroke. 2015;46:1664-1672. 査読あり 10.1161/STROKEAHA.114.007722
- 2) Tada Y, Yagi K, Uno M, Matsushita N, Kanematsu Y, Kuwayama K, Shimada K, Nishi K, Hirasawa M, Satomi J, Kitazato KT, Kageji T, Matsuura E, Nagahiro S. Improvement of Plasma Biomarkers after Switching Stroke Patients from Other Angiotensin II Type I Receptor Blockers to Olmesartan. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2015;24:1487-1492. 査読あり 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.03.015
- 3) Shimada K, Furukawa H, Wada K, Wei Y, Tada Y, Kuwabara A, Shikata F, Kanematsu Y, Lawton MT, Kitazato KT, Nagahiro S, Hashimoto T. Angiotensin-(1-7) protects against the development of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in mice. J Cereb Blood Flow Metab. 2015;35:1163-1168 査読あり 10.1038/jcbfm.2015.30
- 4) 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 83:1127-1134 査読あり 10.1016./j.wneu.2015.01.037
- 5) Tada Y, Wada K, Shimada K, Makino H, Liang EI, Murakami S, Kudo M, Shikata F, Silva RAP, Kitazato KT, Hasan DM, Kanematsu Y, Nagahiro S, Hashimoto T, Estrogen protects against intracranial aneurysm rupture in ovariectomized mice, Hypertension, 63: 1339-1344, 2014 査読あり
- 6) Tada Y, Makino H, Furukawa H, Shimada K, Wada K, Liang EI, Murakami S, Kudo M, Kung DK, Kitazato KT, Nagahiro S, Lawton MT, Hashimoto T, Roles of estrogen in the formation of intracranial aneurysms in ovariectomized female mice, Neurosurgery. 75: 690-695. 2014 査読あり 10.1227/NEU.0000000000000528
- 7) Tada Y, Wada K, Shimada K, Makino H, Liang EI, Murakami S, Kudo M, Kitazato KT, Nagahiro S, Hashimoto T, Roles of hypertension in the rupture of intracranial aneurysms. Stroke.

45: 579-586, 2014 査読あり  
10.1161/STROKEHA.113.003072

- 8) 多田恵曜, 北里慶子, 永廣信治 脳動脈瘤における Na<sup>+</sup>蓄積と RAS の影響. Angiotensin Research, 10:20-28, 2013 査読なし

[学会発表](計9件)

- 1) T. Miyamoto, K.T. Kitazato, H. Maekawa, T. Yamaguchi, K. Shimada, K. Yagi, Y. Tada, Y. Kurashiki, S. Yoshioka, Y. Kanematsu, J. Satomi, Nagahiro S. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide enhances the rupture of intracranial aneurysms in rats, 25<sup>th</sup> European Stroke Conference 2016.4.13-15, Venice, Italy
- 2) H. Maekawa, T. Miyamoto, K.T. Kitazato, K. Yagi, Y. Tada, K. Shimada, J. Satomi, Nagahiro S. Early Morphological Changes in Cerebral Arteries of Cerebral Aneurysm Rupture Model Rats International Stroke Conference 2016.2.17-19, Los Angeles, USA
- 3) S. Yoshioka, Y. Tada, J. Satomi, K. Yagi, K. Naruishi, K. Kuwayama, K. T. Kitazato, T. Miyamoto, Y. Kanematsu, M. Harada, T. Nagata, Nagahiro S. Impact of Periodontal Disease and - Bacteria on Intracranial Aneurysms International Stroke Conference 2016.2.17-19, Los Angeles, USA
- 4) J. Satomi, Y. Tada, Y. Kanematsu, K. Kuwayama, K. Yagi, T. Kinouchi, K. Nakajima, N. Matsushita, T. Miyamoto, T. Yamaguchi, M. Korai, H. Mure, K. T. Kitazato, Nagahiro S. A Pilot Study of the Mineralocorticoid Receptor Blocker Eplerenone in

- Hypertensive Patients with Unruptured Cerebral Aneurysms International Stroke Conference 2016.2.17-19, Los Angeles, USA
- 5) Korai M, Kitazato KT, Miyamoto T, Shimada K, Yagi K, Tada Y, Kurashiki Y, Kuwayama K, Satomi J, Nagahiro S. Role of hyperhomocysteinemia in the development of intracranial aneurysms. International Stroke Conference, 2015.2.10-12, Nashville, USA
  - 6) 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, International Stroke Conference, 2015.2.10-12, Nashville, USA
  - 7) 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? International Stroke Conference, 2015.2.10-12, Nashville, USA
  - 8) M. Korai, K. Shimada, H. Furukawa, K. Wada, Y. Wei, Y. Tada, A. Kuwabara, F. Shikata, K.T. Kitazato, Nagahiro S, T. Hashimoto. Roles of Macrophage PPAR on Intracranial Aneurysmal Rupture International Stroke Conference, 2015.2.10-12, Nashville, USA
  - 9) Shimada K, Wada K, Tada Y, Wei Y, Kuwabara A, Shikata F, Furukawa H, Kitazato KT, Nagahiro S, Hashimoto T.

Role of angiotensin (1-7) and  
angiotensin type 2 receptor on  
intracranial aneurysmal rupture.  
International stroke conference 2014.  
2014年2月12日から2014年2月14  
日 San Diego, USA

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

徳島大学脳神経外科

[Tokushima-nougeka.com/](http://Tokushima-nougeka.com/)研究室紹介

6. 研究組織

(1) 研究代表者

多田 恵曜 (TADA, Yoshiteru)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・講師

研究者番号：30547964