

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08959

研究課題名(和文)重症くも膜下出血の治療法開発と臨床応用のための橋渡し研究

研究課題名(英文)Development of treatment for poor grade subarachnoid hemorrhage

研究代表者

大熊 洋揮(Hiroki, Ohkuma)

弘前大学・医学研究科・教授

研究者番号：40211099

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：動物実験と臨床研究を並行して施行した。

1)動物実験：ラットくも膜下出血モデルを用い、抗酸化ストレス剤であるエダラボン投与の効果を検討した。頭蓋内圧亢進および血腫強度に相関して、神経細胞アポトーシス、脳浮腫、脳内微小循環系の内皮細胞アポトーシス、脳内微小血栓がみられたが、エダラボンの投与によりこれらがいずれも軽減した。2)臨床研究：脳動脈瘤性くも膜下出血重症例の急性期手術において、術中採取された脳組織、術前後に行ったMRI、脳血管撮影を用いて分析した。対象の7例全例で脳微小循環障害の存在が確認され、MRI上の脳浮腫、脳組織標本での神経細胞アポトーシスとの相関がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症くも膜下出血の予後は極めて不良であり、その改善は重要な課題である。今回の検討で、動物実験、臨床例ともに、くも膜下出血急性期には、神経細胞アポトーシス、脳浮腫、脳微小循環障害などが生じ病態悪化の中核をなしていることが確認された。そして、動物実験で抗酸化ストレス剤の投与によりこうした病態が改善することが確認できた。以上から、臨床例においても病態の改善には抗酸化ストレス剤の投与が有効であると推定された。これらをもとに今後同剤の効果を検討することが有用と判断された。そして将来的に重症くも膜下出血の予後が改善することが可能になれば極めて大きな社会的意義を有すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Animal experiment and clinical analysis were performed.

1) Animal experiment: The efficacy of edaravone was tested using rat subarachnoid hemorrhage model. Neuronal apoptosis, brain edema, microcirculatory disturbance were seen according to intracranial pressure increase and subarachnoid clot, and they were ameliorated by edaravone administration. 2) Clinical study: In 7 cases of poor grade subarachnoid hemorrhage, microcirculatory disturbance was observed by MRI and cerebral angiography, which was corresponding to brain edema on MRI and neuronal apoptosis on brain tissue taken during operation.

研究分野：脳血管障害

キーワード：くも膜下出血 脳動脈瘤 急性期脳損傷

1. 研究開始当初の背景

脳動脈瘤性 SAH の治療成績は向上しているが、脳神経外科管理前に死亡する症例も多く 5 割前後は予後不良である。つまり発症早期の脳損傷が予後を律する最大の因子であり重症例の予後は未だ不良と言える。従来は発症早期の脳損傷は頭蓋内圧 (以下 ICP) 亢進による脳虚血に基づく神経細胞壊死と細胞毒性脳浮腫が主体であると考えられてきた。これに対し、それ以外の諸病態も加わり、急性期の脳障害が増悪し予後を悪化させることが示され、この急性期の一連の病態を early brain injury として統合して捉えられるようになった。実験的にはその病態解明が進められ治療法の開発も試みられているが、臨床的には病態自体が十分に証明されていないのが現状である。また、治療法開発のためには early brain injury の原因と発生する病態との相関性の詳細な把握が必要であるが、実験的にも臨床的にも解明は不十分である。

2. 研究の目的

前述の背景をもとに、重症 SAH に対する治療開発と臨床応用のためには次の 2 点を解明することが必要である。

Early brain injury を構成する諸病態が臨床においても生じているかどうか

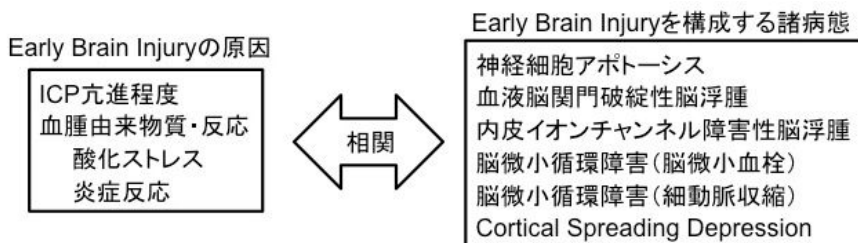
Early brain injury の原因と病態の相関を実験的に把握し、それが臨床においても再現されているかどうか

今回の研究では、これらを解明することを目的に実験的、臨床的分析を行う。

3. 研究の方法

1st step : ヒト SAH で未だ明確に証明されていない諸病態が生じているかどうかを、SAH 重症例を対象に摘出脳組織の分子生物学的分析および各種モニタリングと画像解析により解明する。

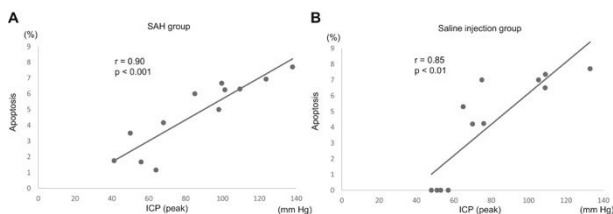
2nd step : Early brain injury の原因である ICP 亢進、血腫由来の物質・反応と、early brain injury を形成する諸病態の相関(下図)を実験動物で解明する。そして同様の検討をヒト SAH においても行い、実験動物における結果が臨床においても再現されているかを検証する。



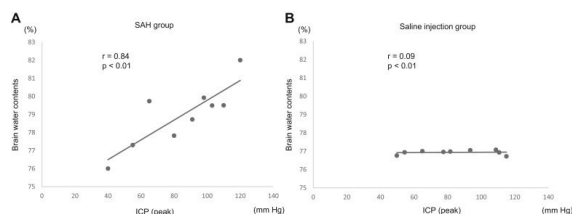
4. 研究成果

1) ラット SAH モデルにおける頭蓋内圧亢進・くも膜下血腫の存在と神経細胞アポトーシス・脳浮腫の関係、さらにそれらと神経学的評価との相関

頭蓋内圧亢進の程度と神経細胞アポトーシスの関連は、SAH ラット、生理的食塩水の大槽内注入によるラットともに頭蓋内圧が上がるにつれてアポトーシス細胞が増加する傾向が見られた。



くも膜下血腫の存在と脳浮腫の関連は、SAH ラットでは頭蓋内圧亢進程度に比例して脳浮腫が増強したが、生理的食塩水の大槽内注入によるラットでは頭蓋内圧による脳浮腫の変化は認めなかった。

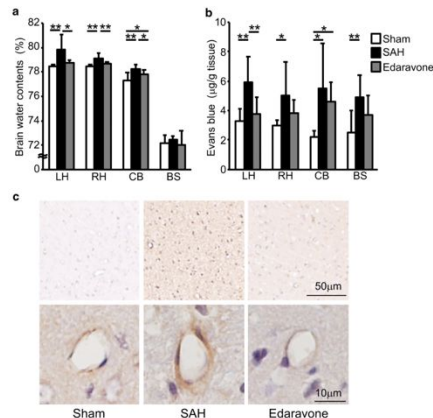


神経学的アポトーシスはその量と神経学的スコアの低下とが逆相関したが、その相関は特にくも膜下出血ラットで顕著であった。

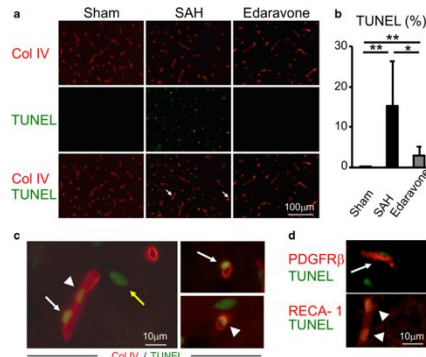
脳浮腫はくも膜下出血ラットでのみその程度と神経学的スコアの低下の逆相関が認められたが、生理的食塩水注入ラットでは相関がみられなかった。以上から、神経細胞アポトーシスは主に頭蓋内圧の亢進により惹起され、脳浮腫は主にくも膜下血腫の存在により生じさらに血腫の存在下に頭蓋内圧亢進が影響を与える。また、神経学的障害は主に脳浮腫により引き起こされ、神経細胞アポトーシスの影響は小さいと考えられた。従ってEBIにおいては頭蓋内圧亢進のみならず血腫の存在も多大なる影響を及ぼすことが証明された。

2) ラット SAH モデルにおける酸化ストレスと脳微小循環障害の関係

酸化ストレスと血液脳関門および脳浮腫の関連：SAH 後には脳の水分含有量が増加し、エバンスブルーの漏出が増大するが、抗酸化ストレス剤の投与でこれらが軽減した。免疫染色でもSAHでは毛細血管の周囲に免疫グロブリンの漏出が観察されるが、抗酸化ストレス剤の投与ではこれが改善した。



酸化ストレスと微小血管内皮細胞アポトーシスおよび微小血栓の関連：SAH 後には微小血管内皮細胞アポトーシスが増加し、それに伴い微小血栓が多数見られるが、これらは抗酸化ストレス剤の投与で改善した。

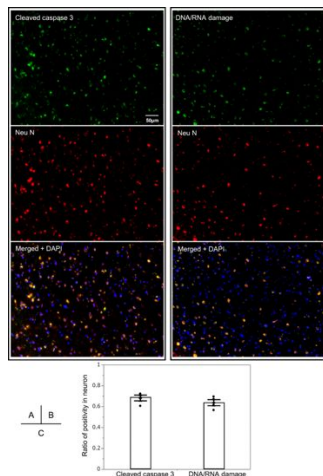


以上から酸化ストレスが脳内微小循環系を障害させることで EBI において重要な役割を果たすことと、その治療法として抗酸化ストレス剤の投与が有力であることが示された。

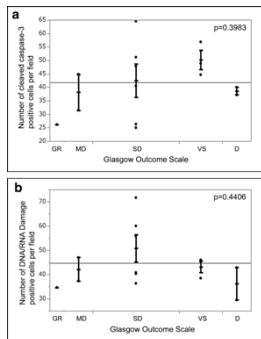
3) ヒト SAH における神経細胞アポトーシスの証明

Hunt and Hess grade Ⅲ の重症 SAH 症例をを対象に、急性期開頭手術時に出血などで破壊された脳を摘出し、神経細胞アポトーシスの有無と転帰との相関を検討した。

神経細胞アポトーシスの有無：重症例の脳では一定の割合で神経細胞アポトーシスが観察された。



神経細胞アポトーシスの程度と転帰との相関では、アポトーシスが増加するほど転機不良となる可能性が示唆されたが、統計学的有意差はみられなかった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Hiroki Ohkuma
2. 発表標題 Microthrombosis and arteriolar constrictions after SAH
3. 学会等名 I S A H 2 0 1 9 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masato Naraoka
2. 発表標題 Evaluation of the microcirculatory dysfunction by Arterial Spin Labeling (ASL) after subarachnoid hemorrhage
3. 学会等名 I S A H 2 0 1 9 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	奈良岡 征都 (Naraoka Masato) (10455751)	弘前大学・医学部附属病院・講師 (11101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------