

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16603

研究課題名（和文）脳保護作用を有する各種アミノ酸の探索

研究課題名（英文）Search for neuroprotective properties of various amino acids

研究代表者

大和 恵子（Yamato, Keiko）

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・客員研究員

研究者番号：60760791

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、当該研究室独自の一定体積の脳梗塞が出現する3血管閉塞脳梗塞（3-V0）モデルマウスを用いて、数種のアミノ酸の脳保護作用の有無を検討し、脳梗塞を縮小させる脳保護薬候補物質を探索した。  
具体的には、局所脳虚血に対する脳保護効果の有無を調べる目的に、各個体へ3血管閉塞による局所一過性脳虚血を負荷し、数種のアミノ酸を静脈内投与し、局所神経機能の判定および脳梗塞体積の算出を行った。その結果、数種のアミノ酸に脳梗塞体積を縮小させる可能性があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今現在、脳梗塞治療の脳保護薬としては、本邦でのみ認可されているエダラボン（ラジカット）があるが、世界標準の治療薬とはなっておらず、脳保護、すなわち、発症後の虚血環境において脳組織を壊死から守るという強力な作用を有する薬剤の研究・開発が喫緊の課題となっている。本研究における、アミノ酸の虚血性脳卒中急性期静脈内投与による治療効果が、臨床の場における脳梗塞治療に応用できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we examined the protective effects of several amino acids on cerebral ischemia using a 3-vessel occlusion (3-V0) model in mice.

Mice intravenously received several amino acids after the induction of ischemia. At the endpoint, outcomes were assessed based on neurological deficit scores and infarcted lesion volumes. As the results, it was suggested that several kinds of amino acids reduce the cerebral infarction volume.

研究分野：脳科学

キーワード：脳保護 アミノ酸

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

今現在、脳梗塞治療の脳保護薬としては、本邦でのみ認可されているフリーラジカルスカベンジャーであるエダラポン(ラジカット®)があるが、残念ながら、世界標準の治療薬とはなっておらず、その意味において、世界に認められた脳保護、すなわち、発症後の虚血環境において脳組織を壊死から守るといった強力な作用を有する薬剤の研究・開発が喫緊の課題となっている。

### 2. 研究の目的

虚血性脳卒中は、死亡、身体障害、あるいは「クオリティ・オブ・ライフ(QOL)」低下等の主たる原因となっている。多くの薬剤が脳保護作用を有すると基礎研究の場から報告されたが、それらのほぼすべてにおいて、ヒト臨床試験における有用性を示すことができなかった。すなわち発症後の虚血環境において脳組織を壊死から守るといった強力な作用を有する薬剤は、未だに開発も確認もされていない。様々なアミノ酸が生体機能を有することは良く知られており、すでに我々が行った予備試験では、アミノ酸の一種であるセリンが脳梗塞縮小効果を示す可能性が示唆された。本研究では、当該研究室独自の3血管閉塞脳梗塞(3-V0)モデルマウスを用いて、アミノ酸の有する脳保護効果を探索し、脳梗塞性病巣を抑制するか否かを検討する。虚血性脳卒中急性期静脈内投与(治療効果)または、虚血発症以前の長期経口投与(予防的効果)を用い、僅かでも脳保護効果が認められた場合には、その至適用量を明らかとする。これにより、臨床の場における脳梗塞治療に貢献する。

### 3. 研究の方法

#### ・3血管閉塞脳梗塞(3-V0)モデルマウスの作成

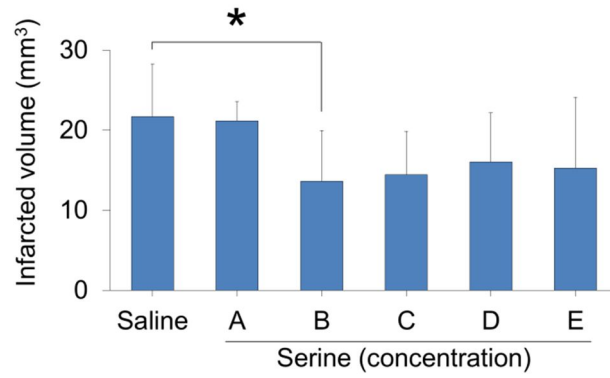
当該研究室では、ラットでの技術をC57BL/6Jマウスに応用した独自の3V0脳梗塞モデル(図1)を確立している(Yangら, Eur Neurol, 2014)。このモデルは手術手順が簡便で、ほぼ完全に近い無血操作を行うことができ、ゆえに脳梗塞誘導ミスが生じず、よって除外動物を設ける必要がない。一方、C57BL/6Jマウスに対して一般的な脳梗塞誘導法である頸動脈よりのスレッド閉塞手技により脳梗塞を形成させる場合、C57BL/6Jマウスは一般的に後交通動脈を欠くため、局所脳虚血ではなく半球性の巨大な虚血領域をもたらすことが知られている(Kitagawa, 1998)。本モデルでは虚血梗塞部位は大脳皮質のみに限局し、基底核への障害が全く及ばないため虚血性障害が致死的ではなく、その体積に関しては、ばらつきが少なく、高い再現性と安定した運動機能障害の出現が確認されている。

- 1) 局所脳虚血に対する脳保護効果の判定：脳虚血耐性の発現の有無を調べる目的に、各個体へ局所一過性脳虚血(上記)を負荷し、種々のアミノ酸を投与し、以下の判定事項に基づき、上記の投与量および投与タイミングを検討し、最も適切なものを決定する。
- 2) 局所神経機能の判定：独自に開発した神経機能脱落指標(尾懸垂試験)を用いる。
- 3) 脳梗塞体積の算出：その後の急性期(24時間)の壊死に陥った病巣(脳梗塞)体積を計測する。TTC染色後の脳をデジタル画像として取り込み、画像解像ソフトを用いて各スライスの断面積、病巣の体積、および、対側脳との比較による脳浮腫の計測を各個体にて行う。
- 4) 虚血中の局所脳血流低下レベルの評価：レーザードップラー血流計にて測定する。
- 5) 過性局所脳虚血後の行動解析：虚血負荷を行った後の一定空間内での、一定時間移動距離、平均移動速度を動画像、行動解析専用ソフトを用いて解析し、虚血負荷の通常運動機能、および、活動性に与える影響を定量化する。

### 4. 研究成果

虚血性脳卒中は、「クオリティ・オブ・ライフ(QOL)」を低下させる主たる原因となっている。今現在、脳梗塞治療の脳保護薬としては、本邦でのみ認可されているフリーラジカルスカベンジャーであるエダラポン(ラジカット)があるが、残念ながら、世界標準の治療薬とはなっておらず、その意味において、世界に認められた脳保護、すなわち、発症後の虚血環境において脳組織を壊死から守るといった強力な保護作用を有する薬剤の開発が求められている。本研究では、当該研究室独自の一定体積の脳梗塞が出現する3血管閉塞脳梗塞(3-V0)モデルマウスを用いて、数種のアミノ酸の脳保護作用の有無を検討し、脳梗塞を縮小させる脳保護薬候補物質を探索した。

脳保護薬となり得るアミノ酸を探索し、虚血急性期(24時間後)の評価を行った。具体的には、局所脳虚血に対する脳保護効果の有無を調べる目的に、各個体へ3血管閉塞による局所一過性脳虚血を負荷し、数種のアミノ酸を静脈内投与し、局所神経機能の判定および脳梗塞体積の算出を行った。その結果、セリン等のアミノ酸に脳梗塞体積を縮小させる可能性があることが示唆された(図)。しかし、局所神経機能の判定については、虚血急性期では難しく、それらの数種のアミノ酸について、さらに、虚血慢性期(7日後)の検討が必要であることが示された。



図：セリン投与と脳梗塞体積

<引用文献>

Yang *et al.*, An integrated stroke model with a consistent penumbra for the assessment of neuroprotective interventions. *Eur Neurol.* 2014;71(1-2):4-18.  
 Kitagawa *et al.*, Cerebral ischemia after bilateral carotid artery occlusion and intraluminal suture occlusion in mice: evaluation of the patency of the posterior communicating artery. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1998 May;18(5):570-9.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----