

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09391

研究課題名(和文) 脳動脈瘤破裂における inflammasome 活性化と sirtuin の役割

研究課題名(英文) Role of inflammasome activation and sirtuins in cerebral aneurysm rupture

研究代表者

兼松 康久 (KANEMATSU, Yasuhisa)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・准教授

研究者番号：90363142

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)：エストロゲン欠乏による脳動脈破裂と関連してMMP-9/TIMP2の不均衡が生じる効エムとして、炎症に関連したInterleukin(IL-1)活性化に関わるInflammasome(NOD-Like Receptor Protein 3; NLRP3)及びその制御に作用すると考えられるsirtuin(Sirt1)に着目した。エストロゲン欠乏状態で破裂し易い脳動脈瘤において、エストロゲン受容体ER及びSirt1の賦活化はNLRP3/IL-1/MMP-9経路を抑制し、脳動脈破裂予防の可能性を論文誌上(J Neurosurg. 2022)、国際学会(ISC, 2021)で発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

閉経期以後に脳動脈瘤破裂をきたし易い女性のERを介した作用について培養した脳血管内皮細胞又は平滑筋細胞を用い、エストロゲンの存在/非存在下で、エストロゲン受容体の発現と炎症性変化の指標としてNLRP3、その防衛的役割を果たす可能性のあるsirt1の発現を解析、17 β -estradiol, ER作動薬のPPT(4,4',4''-(4-Propyl-[1H]-pyrazole-1,3,5-triyl) trisphenol)依存性、エストロゲン受容体ER作動薬DPN(Diarylpropionitrile)非依存的に抗炎症作用により血管保護的に作用する事を実証し、臨床応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Subarachnoid hemorrhage due to intracranial aneurysm (IA) rupture is a devastating event. In estrogen deficient and hypertensive (OVX+/HT) aneurysm model rats, the frequency of IA rupture was significantly higher than in non OVX/HT rats. In the left posterior cerebral artery prone to rupture in OVX+/HT rats, the mRNA levels of estrogen receptor (ER) and sirtuin (Sirt1) were decreased, and the mRNA levels of NLRP3 inflammasome and interleukin-1 (IL-1), and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) were elevated. Treatment with an ER modulator, bazedoxifene normalized the expression of these proteins and improved SAH-free survival. In human cerebral vascular cell lines, the depletion of ER and Sirt1 and the accumulation of NLRP3 were counteracted by estradiol or an ER agonist. This work represents that the depletion of ER and Sirt1 may contribute to activation of the NLRP3/IL-1/MMP-9 pathway, facilitating the rupture of IAs under E2- condition.

研究分野：脳神経外科関連

キーワード：Inflammasome NLRP3 sirtuin ER α 脳動脈瘤破裂

1. 研究開始当初の背景

MRI の普及により脳動脈瘤の検出される頻度が増加しているが、本人の希望による経過観察中に破裂をきたす場合もあることから、新たに脳動脈瘤形成・破裂を予防する有効な薬物治療の開発が切望されている。閉経期女性に脳動脈瘤が多いとする疫学的調査結果を踏まえ、エストロゲン欠乏状態で脳動脈-嗅動脈 (ACA-OA) 分岐部に脳動脈瘤が好発する独自の脳動脈瘤モデルを確立した (J Neurosurg 2005)。また脳動脈瘤破裂のリスクとされる高血圧、炎症、酸化ストレスに対して抑制作用が期待される薬剤や血管保護作用を有する可能性のある薬物を用いた治療を行い、脳動脈瘤形成抑制作用を示し、有効性の機序についてもこれまでに明らかにしてきている (Hypertension 2009, 2012, Stroke 2014, Hypertension, 2014)。さらに臨床でパイロット試験を行い、9mm 以下の脳動脈瘤の破裂を薬物治療で抑制できる可能性も示唆している (J Stroke Cerebrovasc Dis. 2018)。このようにヒト未破裂あるいは破裂脳動脈瘤の組織学的解析から、安定性あるいは不安定未破裂脳動脈瘤の差異についての知見を継続的に報告し、臨床および基礎研究に反映させているが、臨床応用には至っていない。

そこで、さらに破裂脳動脈瘤での検討を行うために、未破裂脳動脈瘤モデルの血行動態変化を増強し、破裂と未破裂脳動脈瘤との際を検討するために、脳動脈の結紮部位を追加することにより、ヒトと類似した部位が再現性よく破裂する脳動脈瘤破裂モデルを新たに確立した。その破裂しやすい脳動脈瘤血管壁では、IL-1 の発現や MMP-9/TIMP2 の不均衡が未破裂部位より高いことを報告している (JCBFM 2017, JNS 2019)。またヒトの破裂症例では血中レベルで MMP-9/TIMP2 の不均衡が検出できることを報告している (Neurosurgery Open, 2019)。しかし、破裂に至る詳細なメカニズムについては検討されておらず、不明のままである。

2. 研究の目的

ヒトにおける脳動脈瘤の破裂を抑制するために、エストロゲン欠乏状態の脳動脈瘤破裂ラットモデルにおいて、破裂好発部位におけるエストロゲン (E2) 欠乏の有無による破裂頻度への影響およびその詳細な破裂のメカニズムを解析する必要があると考えられる。さらに、本研究では、ヒトへの外挿を考慮して、ラット脳動脈瘤モデルに加えてヒト脳血管を用いて、脳動脈瘤破裂にむかう病態の詳細なメカニズムを明らかにするための検討を行った。

E2 欠乏が未破裂脳動脈瘤の発生および破裂にも影響することを明らかにし、破裂に至るメカニズムとしてエストロゲン受容体 (ER α 、ER β) の役割や炎症に関連した interleukin (IL-1) 活性化に関わる NOD-like receptor protein (NLRP3) inflammasome およびその制御に関わると考えられる sirtuin に着目し、脳動脈破裂との関連性を明らかにし、薬物によるこれらの破裂制御法についても検討を行うこととした。

3. 研究の方法

(1)脳動脈瘤破裂モデルは以下のように作製する。13 週齢の雌性ラットを卵巣摘出 (OVX) の有無で群分けし、両群の右総頸動脈 (CCA) を結紮し、pterygopalatine artery (PPA) と外頸動脈 (external carotid artery: ECA) も結紮後、8%食塩水の給餌を開始し、2 週間後に両側後腎動脈結紮により腎性高血圧を誘導すると、独自の先行研究では OVX 群では 12 週間後に約 80% の前交通動脈 嗅球動脈分岐部 (ACA-OA) において未破裂脳動脈瘤が形成され、PPA および ECA の追加結紮により 6-12 週後に前交通動脈 (A-com) や後交通動脈領域 (PW) に約 50% の脳動脈瘤破裂が観察されている。本モデルにおいて、OVX の有無による破裂率を比較し、E2 の欠乏による破裂頻度への影響を調べる。

(2)脳動脈瘤が形成され、破裂しやすくなる血管壁における E2 欠乏による血管壁の形状変化への影響と血管壁の口径および血管壁の肥厚度を調べる。

(3)脳動脈瘤が形成される血管壁の IL-1 活性化による NLRP3 inflammasome およびその制御に関わると考えられる sirtuin の発現変化と ER α および ER β との関係性を免疫組織学的あるいは mRNA レベルで解析する。

(4)ヒトへの外挿のために、ヒト脳血管内皮細胞および平滑筋細胞を用いて継代培養し、E2 欠乏による inflammasome 活性化によるエストロゲン受容体への影響を調べるために、10%ウシ胎児血清アルブミン (FBS) free の状態で 17 β -estradiol, エストロゲン受容体 (ER) 作動薬である PPT(4,4',4''-(4-Propyl-[1H]-pyrazole-1,3,5-triyl) trisphenol) あるいは ER 作動薬 DPN (Diarylpropionitrile) を添加し、ER α および ER β 受容体、NLRP3、sirt1 の発現への影響を western blot 法で解析する。

4. 研究成果

エストロゲン欠乏による脳動脈破裂と関連して脳動脈モデル動物での血管壁および脳動脈破裂症例の血中レベルでも MMP-9/TIMP2 の不均衡が生じることをこれまでに報告している (J Neurosurgery, 2019, Neurosurgery open, 2019)。そのメカニズムとして、炎症に関

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Takagi Yasushi, Kanematsu Yasuhisa, Mizobuchi Yoshifumi, Mure Hideo, Shimada Kenji, Tada Yoshiteru, Morigaki Ryoma, Sogabe Shu, Fujihara Toshitaka, Miyamoto Takeshi, Miyake Kazuhisa	4. 巻 67
2. 論文標題 Basic research and surgical techniques for brain arteriovenous malformations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Medical Investigation	6. 最初と最後の頁 222 ~ 228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2152/jmi.67.222	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ishihara Manabu, Nakanishi Nobuto, Tsutsumi Rie, Hara Kanako, Machida Kyoka, Yamamoto Nobuaki, Kanematsu Yasuhisa, Sakaue Hiroshi, Oto Jun, Takagi Yasushi	4. 巻 30
2. 論文標題 Elevated Urinary Titin and its Associated Clinical Outcomes after Acute Stroke	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases	6. 最初と最後の頁 105561 ~ 105561
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105561	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shimada Kenji, Yamaguchi Tadashi, Miyamoto Takeshi, Sogabe Shu, Korai Masaaki, Okazaki Toshiyuki, Kanematsu Yasuhisa, Satomi Junichiro, Nagahiro Shinji, Takagi Yasushi	4. 巻 -
2. 論文標題 Efficacy of intraarterial superselective indocyanine green videoangiography in cerebral arteriovenous malformation surgery in a hybrid operating room	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 1 ~ 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2020.3.JNS20319	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamamoto Yuki, Yamamoto Nobuaki, Kanematsu Yasuhisa, Kuroda Kazutaka, Yamaguchi Izumi, Miyamoto Takeshi, Sogabe Shu, Shimada Kenji, Takagi Yasushi, Izumi Yuishin	4. 巻 10
2. 論文標題 High White Blood Cell Count Is a Risk Factor for Contrast-Induced Nephropathy following Mechanical Thrombectomy for Acute Ischemic Stroke	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cerebrovascular Diseases Extra	6. 最初と最後の頁 59 ~ 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000507918	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Yuki, Yamamoto Nobuaki, Fujita Koji, Fukumoto Tatsuya, Murakami Nagahisa, Mure Hideo, Kanematsu Yasuhisa, Takagi Yasushi, Izumi Yuishin	4. 巻 59
2. 論文標題 Cerebral Venous Thrombosis: An Unexpected Complication with Cerebrospinal Fluid Leaks after a Fall in a Patient with Spinocerebellar Ataxia Type 6	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 1749 ~ 1753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.4388-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Nobuaki, Izumi Yuishin, Yamamoto Yuki, Kuroda Kazutaka, Yamaguchi Izumi, Sogabe Shu, Miyamoto Takeshi, Shimada Kenji, Kanematsu Yasuhisa, Morigaki Ryoma, Takagi Yasushi	4. 巻 199
2. 論文標題 Factors associated with DWI-ASPECTS score in patients with acute ischemic stroke due to cerebral large vessel occlusion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Neurology and Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 106316 ~ 106316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clineuro.2020.106316	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shikata Eiji, Miyamoto Takeshi, Yamaguchi Tadashi, Yamaguchi Izumi, Kagusa Hiroshi, Gotoh Daiki, Shimada Kenji, Tada Yoshiteru, Yagi Kenji, Kitazato Keiko T., Kanematsu Yasuhisa, Takagi Yasushi	4. 巻 19
2. 論文標題 An imbalance between RAGE/MR/HMGB1 and ATP1 3 is associated with inflammatory changes in rat brain harboring cerebral aneurysms prone to rupture	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Neuroinflammation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12974-022-02526-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Tadashi, Miyamoto Takeshi, Shikata Eiji, Yamaguchi Izumi, Shimada Kenji, Yagi Kenji, Tada Yoshiteru, Korai Masaaki, Kitazato Keiko T., Kanematsu Yasuhisa, Takagi Yasushi	4. 巻 138
2. 論文標題 Activation of the NLRP3/IL-1 /MMP-9 pathway and intracranial aneurysm rupture associated with the depletion of ER and Sirt1 in oophorectomized rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 191 ~ 198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2022.4.JNS212945	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Tadashi, Miyamoto Takeshi, Kitazato Keiko T., Shikata Eiji, Yamaguchi Izumi, Korai Masaaki, Shimada Kenji, Yagi Kenji, Tada Yoshiteru, Matsuzaki Yoshihito, Kanematsu Yasuhisa, Takagi Yasushi	4. 巻 133
2. 論文標題 Time-dependent and site-dependent morphological changes in rupture-prone arteries: ovariectomized rat intracranial aneurysm model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 1486 ~ 1494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2019.6.JNS19777	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 兼松康久、島田健司、曾我部周、宮本健志、石原学、山口泉、多田恵曜、山本雄貴、山本伸昭、高木康志
2. 発表標題 当院における巨大血栓化脳動脈瘤に対する治療
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第79回学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 兼松康久、石原学、宮本健志、曾我部周、島田健司、高木康志
2. 発表標題 当院における高齢者破裂脳動脈瘤に対するコイル塞栓術の治療成績と予後の検討
3. 学会等名 第33回日本老年脳神経外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 兼松康久、島田健司、曾我部周、宮本健志、石原学、山口泉、多田恵曜、里見淳一郎、高木康志
2. 発表標題 脳底動脈閉塞に対する当院での急性期治療成績
3. 学会等名 STROKE2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮本健志、山口真司、曾我部周、山本雄貴、山本伸昭、島田健司、兼松康久、高木康志
2. 発表標題 当院における中大脳動脈閉塞に対する治療動向
3. 学会等名 STROKE2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 島田健司、山口泉、宮本健志、曾我部周、三宅一央、花岡真実、兼松康久、松崎和仁、佐藤浩一、高木康志
2. 発表標題 海綿静脈洞部硬膜動静脈瘻におけるshunted pouchと頭蓋底骨の関係
3. 学会等名 第36回NPO法人日本脳神経血管内治療学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山口真司、高麗雅章、島田健司、多田恵曜、北里慶子、兼松康久、高木康志
2. 発表標題 卵巣摘出ラットにおけるER およびSirt1の減少を介したNLRP3の活性と脳動脈瘤破裂の関連
3. 学会等名 第65回日本脳循環代謝学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山口真司、宮本健志、四方英二、島田健司、多田恵曜、高麗雅章、北里慶子、兼松康久、高木康志
2. 発表標題 ER およびSirt1の減少を介したNLRP3の活性が卵巣摘出ラットの脳動脈瘤破裂に影響する
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第81回学術総会
4. 発表年 2022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	高木 康志 (TAKAGI Yasushi) (40312227)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授 (16101)	
研究分担者	八木 謙次 (YAGI Kenji) (80551837)	川崎医科大学・医学部・講師 (35303)	
研究分担者	多田 恵曜 (TADA Yoshiteru) (30547964)	徳島大学・病院・特任講師 (16101)	
研究分担者	島田 健司 (SHIMADA Kenji) (60624351)	徳島大学・病院・講師 (16101)	
研究分担者	高麗 雅章 (KORAI Masaaki) (60794013)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・助教 (16101)	
研究分担者	宮本 健志 (MIYAMOTO Takeshi) (80585000)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・徳島大学専門 研究員 (16101)	
研究分担者	四方 英二 (SHIKATA Eiji) (30813315)	川崎医科大学・医学部・講師 (35303)	

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
---------	---------