

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 5日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591844

研究課題名（和文） 脳動脈瘤形成・増大におけるスタチンの二面性作用

研究課題名（英文） Bidirectional effects of statins on the formation and growth of cerebral aneurysms

研究代表者

里見 淳一郎（SATOMI JUNICHIRO）

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授

研究者番号：10304510

研究成果の概要（和文）：エストロゲン欠乏状態というヒト脳動脈瘤に近いモデルを用いて低用量の水溶性スタチンによる治療を行うと、脳動脈瘤の増大が抑制され、eNOS 増加や接着分子の低下に関連した血管保護作用が示唆された。一方、高用量の水溶性スタチンや低用量でも脂溶性スタチンで治療すると、アポトーシス誘導と関連した動脈瘤増大や破裂が認められた。スタチンは2面性の作用があるため、慎重投与が望ましいことを示す。この結果はStroke 誌に掲載された ([Stroke](#), 2011;42:2286-93)。

研究成果の概要（英文）：

Statins exert pleiotropic effects on the vasculature, independent of their cholesterol-lowering properties. In a rat model we studied whether statins prevent the initiation and growth of cerebral aneurysms. A hydrophilic statin at low dose prevented the cerebral aneurysm formation, which was associated with eNOS up-regulation. On the other hand, the statin at high doses and a lipophilic statin promoted aneurysm growth and rupture; the deleterious effects were associated with vascular apoptosis. Our results issue a warning that statins exert bidirectional effects on cerebral aneurysms.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：脳動脈瘤、高血圧、エストロゲン

1. 研究開始当初の背景

近年、脳動脈瘤モデルにスタチンを投与すると脳動脈瘤形成が抑制されたと報告された(Aoki, Stroke. 2008;39:1276-85)。しかし、予備的に我々の脳動脈瘤モデル

にスタチンを投与したところ、低用量の水溶性スタチンでは脳動脈瘤形成を抑制されるものの、高用量の水溶性スタチン、脂溶性のスタチンを投与すると有意に脳動脈瘤が増大し、破裂によるくも膜下出

血を観察した (in preparation)。最近発表された Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) study では、スタチンが出血性脳卒中の発症を増加させる可能性があることも判明した。心血管障害に対して、スタチンは臨床的にも基礎的にもさまざまな有用性が多数報告されており、スタチンの不利益な面の報告はほとんどない。しかし、脳血管障害についての報告は数少なく、心血管と頭蓋内血管では血管構造や血流など相違点も多い。脳動脈瘤に対するスタチン投与はその用量によって、異なる作用を示す可能性があることと推察される。従って、それぞれの作用機序を解明し、脳動脈瘤に対するスタチンの両面作用を明確に示すことで、①脳動脈瘤の病因を明らかにすることができ、なおかつ②安全なスタチンによる治療法を構築できると考えられる。一般的に、心血管障害ではスタチンを使用するのは非常に利点が多く、多数の人々に恩恵をもたらす。しかし、無効あるいは有害事象をもたらす疾患もあることを考慮する必要があることを明らかにすれば、スタチン適応例により安全に使用できることになり、大変有意義と思われる。

2. 研究の目的

(I) 低用量スタチンが脳動脈瘤増大を抑制した機序の解明

(II) 高用量スタチン、脂溶性スタチンが脳動脈瘤増大した機序の解明

3. 研究の方法

1) In vivo study

1) ラット脳動脈瘤モデルの作製

7週齢雌性 SD ラットに吸入麻酔下で両側の後腎動脈と右総頸動脈を結紮する。その後、生理食塩水を投与し、1ヶ月後に高血圧が誘発されたことを確認後、麻酔下で両側卵巣を摘出し、estrogen 欠乏状態とする。

2) スタチンの投薬

初回手術より2週間後から、経口ゾンデを用いて各群で強制経口投与を開始し、実験終了(14週)まで継続する。

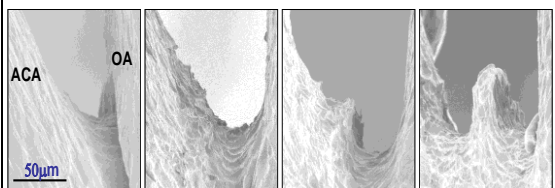
● sham (20匹)

● Control (脳動脈瘤誘導) (40匹)

● pravastatin 5 mg/kg/day (20匹)

● pravastatin 50mg/kg/day (20匹)

● simvastatin 5mg/kg/day (20匹)



Normal Endothelial damage Mild evagination Saccular aneurysm
Cerebral aneurysm

- Normal
There is neither arterial dilation nor are there irregular cell shapes.
- Endothelial damage
The endothelial surface is rough and irregular without marked luminal dilation.
- Cerebral aneurysm
There is evidence of changes such as moderate outward evagination or an obvious saccular aneurysm.

評価項目

i) vascular corrosion cast (右図)による動脈瘤形成頻度、増大程度の形態変化の観察比較を行う。

ii) 3ヶ月後に麻酔下でPBS, 4%パラホルムアルデヒドで灌流固定する。脳血管を摘出し、OCT包埋後薄切切片を作製し、eNOS、接着因子(ICAM-1, VCAM-1, P- and E-selectin)、MCP-1、TNF- α 、MMP-9、酸化ストレス(Nox4, p22phox, Rac1)、apoptosis関連(caspase-3, Bcl-2, Bax)発現を免疫染色で評価する。

3)、2)に記載した分子に関する定量real time-PCRを別グループのラットを用いて行う

a) 低用量スタチンが脳動脈瘤増大を抑制した機序の解明

ラット脳動脈瘤モデルを用い、未治療群および5mg/kg/day プラバスタチン投与のラットを用意する。それぞれ各群におけるeNOS、接着因子(ICAM-1, VCAM-1, P- and E-selectin)、酸化ストレス(Nox4, p22phox, Rac1)、apoptosis関連蛋白(caspase-3, Bcl-2, Bax)等の発現を定量RT-PCRおよび免疫染色により評価す

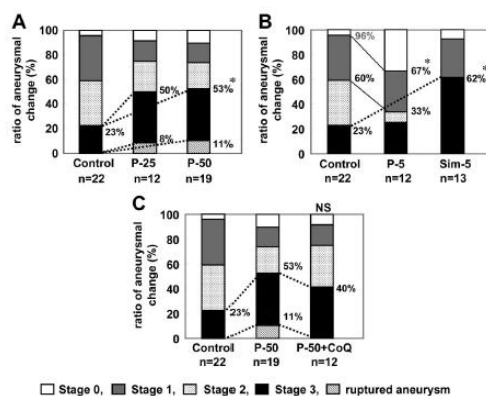
る。

b) 高用量スタチン、脂溶性スタチンが脳動脈瘤増大した機序の解明

近年、スタチンが出血性脳卒中の発症を増加させる可能性があることが報告され、スタチンによる血管平滑筋の増殖抑制およびアポトーシス促進などが原因と考えられる。

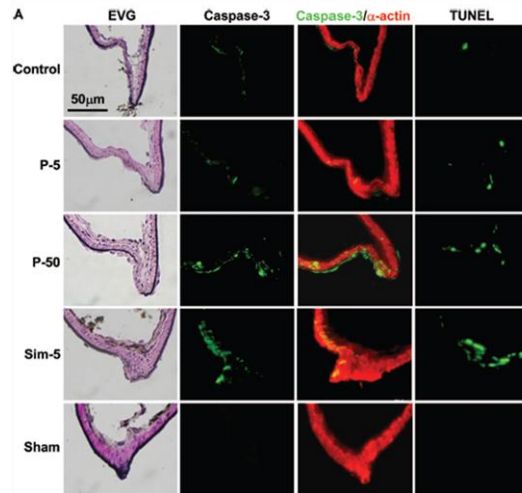
4. 研究成果

1. 水溶性の Pravastatin (5 mg/kg per day) は内皮障害を減少し動脈瘤形成を抑制した(図B)。In vitro 試験で有効性の機序を確認した。eNOS levels を増加し、脳血管内皮細胞における接着分子の発現を抑制したことから、これらの作用を介して血管保護的に作用すると考えられた。一方、高用量の Pravastatin 25 mg/kg per day および 50 mg/kg per day あるいは simvastatin 5 mg/kg per day は動脈瘤を増大や動脈瘤破裂をきたした(図A)。これらのスタチンによる増悪作用は caspase-3 発現や terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL)-陽性細胞の増加と関連したことからアポトーシス誘導作用が示唆された(次段)。



これらの結果から、スタチンは二面性作用があるため、適正な使用法を考慮する

ことが望ましいと考えられる。



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 10 件)

1. Kinouchi T, Kitazato KT, Shimada K, Yagi K, Tada Y, Matsushita N, Sumiyoshi M, Satomi J, Kageji T, Nagahiro S Activation of signal transducer and activator of transcription-3 by a peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist contributes to neuroprotection in the peri-infarct region after ischemia in oophorectomized rats. Stroke. 2012; 43: 478-83 査読有 DOI: 10.1161/STROKEAHA.111.618926
2. Nakajima N, Nagahiro S, Sano T, Satomi J, Tada Y, Yagi K, Kitazato KT, Satoh K. Krüppel-like Zinc-Finger Transcription Factor 5 (KLF5) Is Highly Expressed in Large and Giant Unruptured Cerebral Aneurysms. World Neurosurg. 2011 Nov 7 査読有
3. Tada Y, Kanematsu Y, Kanematsu M, Nuki Y, Liang EI, Wada K, Makino H, Hashimoto T. A mouse model of intracranial aneurysm: technical considerations. Acta Neurochir Suppl. 2011; 111: 31-5 査読有 DOI: 10.1007/978-3-7091-0693-8_6
4. Tada Y, Kitazato KT, Yagi K, Shimada K, Matsushita N, Kinouchi T, Kanematsu Y, Satomi J, Kageji T, Nagahiro S. Statins promote the growth of experimentally induced cerebral aneurysms in estrogen-deficient rats. Stroke. 2011; 42: 2286-93 査読有 DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.608034

5. Shimada K, Kitazato KT, Kinouchi T, Yagi K, Tada Y, Satomi J, Kageji T, Nagahiro S. Activation of estrogen receptor- α and of angiotensin-converting enzyme 2 suppresses ischemic brain damage in oophorectomized rats. Hypertension. 2011; 57: 1161-6 査読有 DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.167650
6. Tada Y, Yagi K, Kitazato KT, Tamura T, Kinouchi T, Shimada K, Matsushita N, Nakajima N, Satomi J, Kageji T, Nagahiro S. Reduction of endothelial tight junction proteins is related to cerebral aneurysm formation in rats. J Hypertens. 2010; 28: 1883-91 査読有 DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.134130
7. Harada M, Morita N, Uno M, Satomi J, Izumi Y, Asanuma K, Nishitani H, Kaji R, Nagahiro S. Incidence and clinical correlation of intracranial hemorrhages observed by 3-tesla gradient echo T(2)*-weighted images following intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator. Cerebrovasc Dis. 2010; 29: 571-5 査読有 DOI: 10.1227/01.NEU.0000365771.89576.77
8. Yagi K, Tada Y, Kitazato KT, Tamura T, Satomi J, Nagahiro S. Ibutilast inhibits cerebral aneurysms by down-regulating inflammation-related molecules in the vascular wall of rats. Neurosurgery. 2010; 66: 551-9 査読有 DOI: 10.1227/01.NEU.0000365771.89576.77
9. Tada Y, Kitazato KT, Tamura T, Yagi K, Shimada K, Kinouchi T, Satomi J, Nagahiro S. Role of mineralocorticoid receptor on experimental cerebral aneurysms in rats. Hypertension. 2009; 54: 552-7 DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.134130
10. Tamura T, Jamous MA, Kitazato KT, Yagi K, Tada Y, Uno M, Nagahiro S. Endothelial damage due to impaired nitric oxide bioavailability triggers cerebral aneurysm formation in female rats. J Hypertens. 2009; 27: 1284-92 査読有 DOI: 10.1097/HJH.0b013e328329d1a7

[学会発表] (計 4 件)

1. Kohrai M, Kitazato KT., Kinouchi T, Shimada K, Sumiyoshi M, Matsushita N, Kanematsu Y, Satomi J, Kageji T,

- Nagahiro S. ACTIVATION OF NUCLEAR RECEPTORS ON NEUROPROTECTION AFTER EXPERIMENTAL CEREBRAL ISCHEMIA IN FEMALE RATS, 80thAANS, 2012 4.14-18, Miami, Florida
2. Sumiyoshi M, Kinouchi T, Tsutsumi T, Kitazato K, Shimada K, Matsushita N, Kanematsu Y, Satomi J, Nagahiro S. Excessive salt-intake exacerbates ischemic brain damage independent of blood pressure, 80thAANS, 2012 4.14-18, Miami, Florida
3. Matsushita N, Kitazato K, Shimada K, Kinouchi T, Kanematsu Y, Satomi J, Nagahiro S Influence of sodium retention on the formation of cerebral aneurysm 80thAANS, 2012 4.14-18, Miami, Florida
4. Sumiyoshi M, Kitazato KT, Kinouchi T, Tsutsumi T, Shimada K, Matsushita N, Kanematsu Y., Satomi J., Nagahiro S. High salt-intake under hypoestrogenicity exacerbates ischemic brain damage without affecting the blood pressure Brain & Pet 2011 5.25-28, Barcelona, Spain

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :
 発明者 :
 権利者 :
 種類 :
 番号 :
 出願年月日 :
 国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :
 発明者 :
 権利者 :
 種類 :
 番号 :
 取得年月日 :
 国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織
 (1) 研究代表者

里見淳一郎 (SATOMI JUNICHIRO)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・准教授
研究者番号：10304510

(2) 研究分担者

永廣信治 (NAGAIHIRO SHINJI)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・教授
研究者番号：60145315

(H21, H22 研究分担者→H23 連携研究者)

兼松康久 (KANEMATSU YASUHISA)
徳島大学・病院・助教
研究者番号：90363142

(H21, H22 研究分担者→H23 連携研究者)

八木謙次 (YAGI KENJI)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・助教
研究者番号：80551837

(H21 研究分担者)

多田恵曜 (TADA YOSHITERU)
徳島大学・病院・助教
研究者番号：30547964

(H21 研究分担者)

佐田 政隆 (SATA MASATAKA)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・教授
研究者番号：80345214

(H21, H22 研究分担者→H23 連携研究者)

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

