

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16626

研究課題名（和文）レドックスナノ粒子による脳梗塞再灌流障害治療および再生医療への有効性の検討

研究課題名（英文）Investigation of the efficacy of redonox particles for the treatment of cerebral infarction reperfusion injury and regenerative medicine.

研究代表者

細尾 久幸（Hosoo, Hisayuki）

筑波大学・附属病院・病院講師

研究者番号：20897623

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：サル主幹動脈閉塞モデルを作成し、そのモデルを確立した。バルーンカテーテルを用いて、一過性に中大脳動脈を閉塞させ、3時間の虚血の後再灌流させた。再灌流前にコントロールとして生理食塩水、実薬群としてレドックスナノ粒子を投与した後、再灌流させた。脳梗塞Day7までのMRI、アップルテストによる神経症状等を評価し、レドナノックス群での脳梗塞および脳浮腫サイズの変化を確認し、その縮小効果を確認した。Day7でsacrificeし、免疫染色でのレドックスナノ粒子も、血管内皮細胞、神経細胞、ミクログリア、グリア細胞等への分布が確認できた。引続き、Day28の長期生存例においても解析し、評価を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳主幹動脈閉塞に対する、血栓回収療法は確立された治療となっているが、ペナンプラがあっても必ずしも機能回復が得られるわけではなく、また再灌流障害に伴う脳浮腫や脳梗塞内出血を伴い、予後を悪化させうる。その原因となる活性酸素種の有効な消去剤としてレドックスナノ粒子を開発し、虚血脳に対して、再灌流させる前にカテーテルを用いた直接投与を行いその評価を行った。短期的な虚血脳への分布および神経保護効果が期待された。今後、有効な活性酸素種消去剤の投与方法の確立により、脳虚血再灌流障害を最小限とできれば、さらなる死亡率の低下や、日常生活自立者の増加を期待できる。

研究成果の概要（英文）：A model of monkey transient large vessel occlusion was established. Using a balloon catheter, the middle cerebral artery was transiently occluded and reperfused after 3 hours of ischaemia. Saline was administered as a control and Redox nanoparticle as an actual drug group before reperfusion. The MRI and Apple test were used to evaluate neurological symptoms and other symptoms until Day 7 of the infarction, and the changes in cerebral infarct and brain edema size in the Redox nanoparticle group were confirmed, confirming its reduction effect. The models were sacrificed on Day 7 and its distribution to endothelial cells, neurons, microglia, and glial cells, etc. in the immunostaining was also confirmed. The results are being analysed and evaluated in long-term survivors on Day 28.

研究分野：Neurointervention

キーワード：レドナノックス粒子 脳虚血再灌流障害

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳梗塞急性期の主幹動脈閉塞症に対する血栓回収療法の有効性は確立されたものの、再灌流障害に伴う二次的脳損傷による予後不良患者は少なくない。その原因の一つとして、活性酸素種；Radical oxygen species (ROS)がある。我々の開発したレドックスナノ粒子(Nitroxide Radical-containing Nanoparticles)を用いて、脳虚血再灌流障害に対する、新たな脳虚血再灌流障害に対する治療法の確立を目指している。よりヒトへの外挿性の高い大型動物(サル)での病態モデルを確立し、本薬剤の有効性の検討および作用機序の解明を行う。また、脳梗塞急性期治療には一定の therapeutic time window があり、患者の発症状況、病変の特徴、搬送時間によって急性期治療の恩恵に預かれず、広範な脳梗塞の完成および、重篤な後遺症をきたす患者も多い。

2. 研究の目的

血栓回収療法による再開通後の脳虚血再灌流障害および完成してしまった虚血巣そのものに対して、我々が開発したレドックスナノ粒子を用いた治療を確立することが、研究の目的である。本研究ではその作用機序を解明するとともに、よりヒトに近い大型動物(サル)での有効性を確認すること。

3. 研究の方法

・サル主幹動脈閉塞モデルの作成；カニクイザルを用い、全身麻酔下に右大腿動脈に 3Fr ガイディングシースを留置。Bovine arch を経由し右内頸動脈に、Scepter 等のバルーン付きカテーテルを中大脳動脈 M1 起始部に誘導する。ヘパリン化にて血栓予防した上で、バルーンにて数時間閉塞し MRI で梗塞巣を評価する。さらに解除した後、神経学的評価と MRI による画像評価、組織評価を検討する。

・サル脳主幹動脈閉塞モデルにおけるレドックスナノ粒子の有効性の検討；Scepter は double lumen であり閉塞解除前より、内腔から薬剤を投与することが可能である。レドックスナノ粒子を閉塞中の脳へ直接投与する。さらに Balloon を解除したあと、すなわち再灌流後にもナノ粒子を投与する。閉塞後からの時間的 MRI 画像変化を撮像し、レドックスナノ粒子投与の有無で比較し有効性を評価する。さらに 24 時間後もしくは 48 時間後の神経学的評価と MRI による画像評価、組織評価を検討する。

・モデルを Day7、Day28 で sacrifice し、脳を摘出。凍結標本を作成し、レドナノックス粒子の脳内での分布を検証する。

4. 研究成果

脳梗塞Day7までの評価を目的として、レドックスナノ粒子投与4頭、コントロール生食投与4頭のモデル作成を行った。マイクロカテーテルで一過性脳虚血再灌流障害モデルを作成し、大脳皮質と基底核に脳梗塞が生じることが確認できて、サル脳梗塞モデルが完成した。翌日以降に MRI を撮影。DWI、FLAIR,T2のシークエンスを撮像し、脳梗塞巣を確認し、モデルを確立した。MRIで経時的に脳梗塞と脳浮腫のサイズと変化を確認できた。アップルテスト、行動テストに

より神経症状を解析した。治療3日目および7日目でレドナノックス投与群において有意に軽症で、脳梗塞領域の有意な縮小が得られた。本薬剤の超急性期における有効性が示唆された。モデルは、Day7でsacrificeした後に脳を摘出。脳梗塞病巣、対側の正常脳、各種臓器におけるレドックスナノ粒子の分布を評価するために組織の凍結保存を行った。凍結切片を作成して、各種蛍光免疫染色を実施し、投与したレドナノックス粒子の虚血脳への分布について検討を行った。免疫染色によりレドックスナノ粒子の、内皮細胞内、神経細胞、ミクログリア(iba1陽性)、グリア細胞への分布を確認した。この結果から、局所動注したレドックスナノ粒子は、血管内から血液脳関門を超えて、脳の各種細胞へ分布し、脳血管保護効果を果たしている可能性が示唆された。

さらに、脳梗塞Day28までの長期評価を目的として、レドナノックス投与群3頭、コントロール群6頭を実施している。同様のMRIの評価、神経学的評価に加え、組織学的評価を実施している。現在、引き続き長期生存例における治療群、コントロール群とで、頭数を増やし解析を継続している。

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

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