

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25年 5月 10日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890052

研究課題名（和文） 脳動脈新生の賦活による急性期脳梗塞に対する新規治療法の開発

研究課題名（英文） Development of the novel therapeutic strategy using the collateral circulation activated by cerebral arteriogenesis

研究代表者

三木 一徳 (MIKI KAZUNORI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：00536823

研究成果の概要（和文）：

脳動脈新生により活性化した側副血行の評価のため、Latex - carbon ink 灌流固定法を利用したマウス慢性虚血モデルの脳表動脈の可視化を行い、脳軟膜動脈吻合部などの動脈新生評価と病理学的観察を行う齧歯類モデルの確立に成功した。PCNA 染色法による、動脈新生の経時的变化についても観察を行い、動脈新生による側副血行形成が早期から行われていることを証明した。ヒト脳梗塞症例での非侵襲的側副血行評価法の確立のため、実際の主幹動脈閉塞の脳梗塞症例の MRI を利用した脳梗塞急性期の側副血行動態評価法の有用性を報告し、主幹動脈閉塞急性期においても、生理的な側副血行動態が梗塞範囲や機能予後に大きな影響を与えることを、臨床的に実証し報告した。

研究成果の概要（英文）：

To evaluate the collateral circulation activated by cerebral arteriogenesis, we established the visualization of the leptomeningial l artery in the chronic cerebral hypoperfusion mouse mode using the Latex-carbon ink fixation methods. We investigated the aretriogenesis with PCNA staining, and successfully found the promoting the collateral circulation resulted from arteriogenesis in acute stage of cerebral ischemia.

We also established the non-invasive MRI methods to evaluate the collateral circulation in acute stroke patients and reported these collateral sign have an important prognostic value in acute ischemic stroke of proximal arterial occlusion.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：7304 脳神経外科学 1(B)脳血管障害学

キーワード：動脈新生、脳梗塞、側副血行、脳主幹動脈閉塞、arteriogenesis

1. 研究開始当初の背景

梗塞を初めとする虚血性脳血管障害に苦

しむ患者数は増加の一途をたどり、永続する後遺症に苦しむことが多いことから、寝たき

りなどの社会問題の原因となっている。

脳梗塞の抗血栓療法以外の薬物的治療法として、現在までにグルタミン酸拮抗薬をはじめとする様々な脳保護療法が開発されたが、そのほとんどすべてが効果を認めなかった。そもそも脳梗塞治療は、虚血という成因から考えても病変部位へ必要量の血流確保を行うことが最も重要である。このため近年、組織プラスミノゲンアクチベータ (tPA) 静注療法や血管内手術による血栓溶解療法が行われるようになり注目を集めている。しかし **therapeutic time window** の少なさから適応症例には限界があり、全体として機能予後改善するという結果を得られていない。このため閉塞血管を再開通させる方法とは別の方法で血流回復を行う治療法は極めて重要な役割を果たすと考えられる。

血管の再生には毛細血管の血管新生 (angiogenesis) と既存動脈のリモデリングとしての動脈新生 (arteriogenesis) があり、組織が虚血による回復不能なダメージを受けるのを回避するためには、後者により、ある程度以上の直径の動脈路による有効な血流を確保することが不可欠である。動脈新生を利用した側副血行活性化は近年の下肢動脈塞性疾患や冠動脈疾患の血管再生医療分野などで有効性が証明されており (W Schaper. *Basic Res Cardiol.* 2009)、脳虚血の有効血流回復にも十分応用できる可能性があると考えられるが、その知見は極めて少ない。

生来ヒトの脳では脳表血管吻合を介した脳軟膜動脈などを代表とする、様々な側副血行路が解剖学的にも知られていて、正常脳内ではほとんど活用されていないが、主幹動脈閉塞による大きな脳梗塞を発症した場合は側副血行路として活用される事実は、脳梗塞急性期の脳血管造影検査や脳 MRI などの手法で確認されている。そして側副血行路の発達した症例では梗塞に陥る領域が小さく、機能予後が良好であることが知られている。このため、元々ヒトが有している側副血行路を早期から人為的に活性化し、脳梗塞の拡大を防ぐことができれば、機能予後を改善させられる可能性がある。さらに既存の治療とも併用可能であり、極めて有望な急性期からの治療戦略になると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、脳内で生じている既存動脈リモデリングとしての動脈新生を検証することで虚血脳内の側副血行活性化のメカニズムを解明し、さらに動脈新生をより賦活させることによる新たなストラテジーの急性期脳梗塞治療法を開発することである。

3. 研究の方法

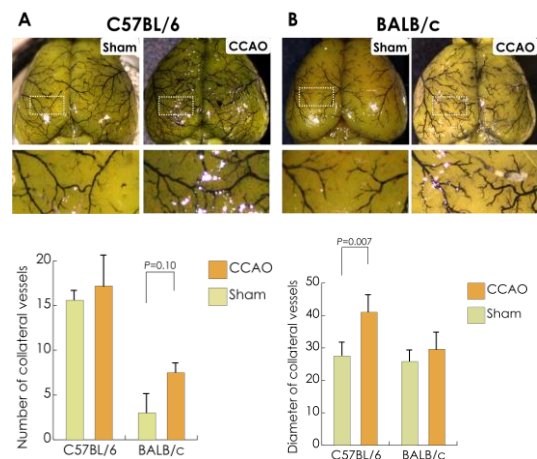
今回の研究戦略として、我々はまず、齧歯類モデル脳内での動脈新生による側副血行活性化の状態を正確に評価するため、マウス慢性虚血モデルを使用し、その側副血行状態の評価が可能になるモデルの確立を行った。

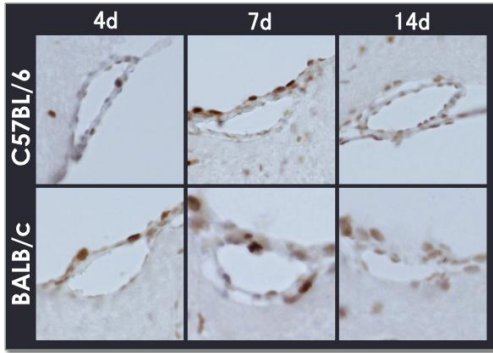
また従来の病理学的方法や行動評価学的方法に加えて、**nanoSPECT** などの核医学的手法や脳表血流赤外線感知装置による脳血流観察等の方法も組み合わせた、より多面的な評価方法を確立することを目指した。急性期治療へ使用する観点と臨床応用の観点からすでに脳血管攣縮に対して臨床応用されている **Rho** キナーゼ阻害薬 (塩酸 **fusdil**) で動脈新生の効果とそのメカニズムを検討した。これをマウス慢性脳虚血モデルに用いて経時的行動観察を行うことでマウスレベルでの脳梗塞に対する血管新生を利用した側副血行活性化治療の有効性を検討した。

また最終的な臨床応用に向けて臨床的な側副血行の評価法を様々な方法で得るため、侵襲が大きい脳血管造影検査に変わる **MRI・MRA** による側副血行評価法の開発を実際の症例を用いて行った。

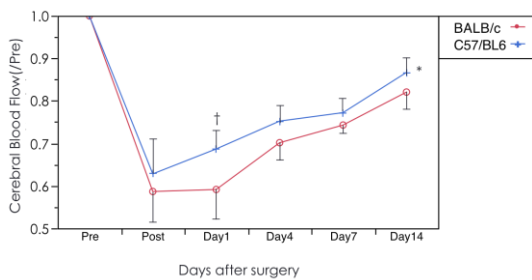
4. 研究成果

(1) 脳動脈新生の賦活による側副血行活性化の評価とそのメカニズムの解明として、**carbon ink** と **Latex** 灌流固定法を利用したマウス慢性虚血モデルの脳表動脈の可視化を行い、脳軟膜動脈吻合部や **willis** 動脈輪の動脈新生評価と病理学的観察を基本に行う齧歯類モデルの確立に成功した。また分裂細胞のマーカーである **BrdU** や **PCNA** 染色法による、動脈新生の経時変化についても観察を行い、動脈新生による側副血行形成が早期から行われていることを証明した。現在、**Rho** キナーゼ阻害薬を投与した場合の動脈新生の変化について検討を行っており、動脈新生促進効果とそのメカニズムの確認を行っている。



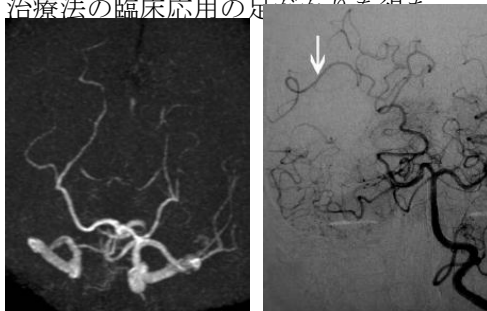


(2) 脳動脈新生賦活による脳循環動態変化の解析として、従来おこなっていたドップラーエコーによる脳表血流測定に加え、赤外線による脳表面像化機器を用いて、動脈新生との関連を検討している。



(3) 脳動脈新生賦活が行動機能障害に与える効果の解析として、当科で従来行っている複数の行動評価バッテリーを用いて、経時的行動観察評価を行い、脳内動脈新生が行動機能障害に与える効果を確認し、Rho キナーゼ阻害薬などによる動脈新生賦活による側副血行活性化を利用した脳梗塞治療の有効性を検討している。

(4) 主幹動脈閉塞による脳梗塞症例での側副血行評価法の確立として、実際的主幹動脈閉塞の脳梗塞症例の MRI を利用した脳梗塞急性期の側副血行動態評価法として FLAIR Vessel sign や MRA PCAL sign などの有用性を報告し、主幹動脈閉塞急性期においても、生理的な側副血行動態が梗塞範囲や機能予後に大きな影響を与えることを、臨床的に実証し報告した。このことによって、今後側副血行活性化のストラテジーを利用した新規治療法の臨床応用の足がかりを得る。



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 1 件)

- ① Ichijo M, Miki K, Ishibashi S, Tomita M, Kamata T, Fujigasaki H, Mizusawa H. Posterior cerebral artery laterality on magnetic resonance angiography predicts long-term functional outcome in middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 44: 512-5, 2013
DOI:10.1161/STROKEAHA.112.674101

[学会発表] (計 5 件)

- ① 一條真彦, 三木一徳, 石橋哲, 水澤英洋
マウス慢性低灌流モデルにおける側副血行路発達の2種系統比較 第54回日本神経学会学術大会, 東京, 2013.5.31
- ② 石橋哲, 一條真彦, 三木一徳, 水澤英洋
慢性脳低灌流モデルにおける軟膜動脈のS1P受容体発現と血管内皮細胞分裂能の検討 第54回日本神経学会学術大会, 東京, 2013.5.31
- ③ 一條真彦・三木一徳, 石橋哲・藤ヶ崎浩人・鎌田智幸・水澤英洋, 血栓溶解療法において側副血行路サイン陽性例は皮質枝領域の梗塞が減少する, 第38回日本脳卒中学会総会, 東京, 2013.3.22
- ④ Ichijo M, Miki K, Ishibashi S, Kamata T, Fujigasaki H, Mizusawa H. Posterior cerebral artery laterality sign on MRA predicts long-term functional outcome in patients with middle cerebral artery occlusion, Asia Pacific Stroke Conference, Tokyo, 2012.9.11
- ⑤ 一條真彦, 三木一徳, 石橋哲, 藤ヶ崎浩人, 鎌田智幸, 水澤英洋, 中大脳動脈閉塞例における側副血行路サインは血栓溶解療法後の良好な転帰と関連する, 第53回神経学会学術集会, 東京, 2012.5.23

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三木一徳 (MIKI KAZUNORI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・助教

研究者番号：00536823