

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24890097

研究課題名(和文) 中膜平滑筋細胞脱落に注目した脳動脈瘤増大機構の解明

研究課題名(英文) Clarification of mechanisms underlying the enlargement of intracranial aneurysms focused on drop-out of medial smooth muscle cells.

研究代表者

青木 友浩 (AOKI, TOMOHIRO)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40633144

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：本検討では、社会的に重要な疾患であるくも膜下出血の主な原因疾患となる脳動脈瘤を対象としその破裂に直接寄与すると推定される中膜の菲薄化、平滑筋細胞脱落機構の解析を先に報告した脳動脈瘤モデル動物を使用し行った。その結果、脳血管壁の炎症反応が中膜の変性・菲薄化に深く寄与することを明らかとした。そして、一連の検討の中で、強い炎症反応と相関する所見として脳動脈瘤壁への脂質修飾を見出し、また、炎症反応を制御する機構としてプロスタグランジン F2a-FP 経路や TNF-alpha の寄与を示唆する結果を得た。これら一連の検討から、脳動脈瘤形成および中膜変性の制御因子としての炎症反応の重要性が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Intracranial aneurysm (IA) is a major cause of subarachnoid hemorrhage (SAH), the most severe form of stroke. Histologically, IA is characterized as a lesion with excessive degenerative changes of arterial walls. However, the mechanisms regulating such degenerative changes of the media remains to be elucidated. In the present study, we have revealed the crucial role of inflammatory responses in IA formation, especially the degenerative changes of the media, mainly using rodent models of IAs. Further, in series of studies, we have clarified some potential mediators regulating or positively correlated with degeneration, such as lipid accumulation in adventitia of IA walls, prostaglandin F2a-FP signaling cascade and TNF-alpha signaling. In conclusion, the findings from the present study have suggested the role of inflammatory responses in degenerative changes in IA lesions.

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 細胞外基質 炎症反応 マクロファージ 脂質 TNF-alpha

1. 研究開始当初の背景

脳動脈瘤は脳血管分岐部に生じる嚢状の病変であり、一般人口の数%に認められる高頻度の疾患である。脳動脈瘤はまた、社会的には50%に及ぶ死亡率を有するくも膜下出血の原因疾患として重要である。しかし、脳動脈瘤治療法は現在、脳動脈瘤の形成機序の詳細が不明である事に起因し侵襲を伴う外科治療に限られている。そのため、多数の症例で脳動脈瘤自体に対する治療は行われていない。このような現状を踏まえると、脳動脈瘤形成機序を検討し明らかとする事とそれにより創薬標的を見出す事は社会的に重要である。

脳動脈瘤は発生後増大し最終的に破裂を来すが、そのうち脳動脈瘤の発生には研究代表者らの一連の検討により、脳血管壁に生じる炎症反応が寄与をしている事が明らかとなっている。しかし、一方で脳動脈瘤は増大の結果破裂を来さない限り無症状であるという事実と、一旦破裂を来すと致死的なくも膜下出血を来し最善の治療を行っても死亡率後遺症率の高い事、そして治療対象となるのはすでに存在している脳動脈瘤である事から脳動脈瘤発生機構よりむしろ脳動脈瘤の増大破裂の機構を解明する事が社会的により重要であると考えられる。

脳動脈瘤の増大は明らかに脳動脈瘤壁の強度に左右される現象である。脳動脈瘤壁の強度は主に中膜平滑筋細胞とそこから産生されるコラーゲンを中心とした細胞外基質により規定される。脳動脈瘤壁において中膜に存在する平滑筋細胞が脱落しており中膜が菲薄化を起こすという組織学的所見はヒト脳動脈瘤、動物モデルに誘発された脳動脈瘤双方で確認されており脳動脈瘤の基本的な組織学的特徴として認知されている。この事実から代表者は、この平滑筋細胞の脱落と中膜菲薄化が脳動脈瘤壁の強度を低下させた結果脳動脈瘤増大に関与すると推測した。

2. 研究の目的

致死的なくも膜下出血の原因疾患でありかつ有病率も高いことから社会的に重要な疾患である脳動脈瘤を対象として、その増大の分子機構の解明を中膜菲薄化、中膜平滑筋細胞脱落に注目し解析しその機構を明らかとすることを目的とする。また、最終的にこれらの実験的知見に基づく新規治療標的因子の同定と新規創薬を目指す。

3. 研究の方法

我々が、先に報告した血流ストレス負荷(片側頸動脈結紮と高血圧誘導)に基づく脳動脈瘤モデル動物(横井俊浩、青木友浩ら;モデル動物利用マニュアル、エル・アイ・シー、小幡裕一ら監修、2010)を使用し脳動脈瘤形成過程で生じる中膜菲薄化・中膜平滑筋細胞脱落につきその経時的変化を確認する。また、その際に生じる病理組織学特徴に関し

ても特殊染色や電子顕微鏡検査を含め詳細に検討する。さらに、中膜菲薄化・平滑筋細胞脱落を制御する機構につき、遺伝子改変動物や各種阻害薬などを組み合わせることにより明らかとする。

4. 研究成果

まず、脳動脈瘤壁中膜菲薄化は脳動脈瘤誘発後瘤形成とともに経時的に進行する事を明らかとした。また、中膜菲薄化や中膜平滑筋細胞脱落の機序を先に細胞外基質のリモデリングを制御することが報告されているプロスタグランジンF_{2a}-F_P経路に注目し解析した結果、選択的F_P受容体拮抗薬投与下では脳動脈瘤壁へのマクロファージの浸潤の悪化、炎症反応の亢進とともに脳動脈瘤壁の菲薄化が進行する事を明らかとした。また、病理組織学的検討では、細胞外基質特にコラーゲンの変性が著明であり正常なコラーゲン繊維の構造は保たれておらず融合し弯曲した'spiralled collagen'と言われる構造体へ変化していた。合わせて、大動脈でも同様のマクロファージの浸潤増加など炎症反応の増悪が生じ弾性板の断裂・壁変性に伴い大動脈解離を来す事を明らかとした。また、その他中膜の菲薄化に寄与し得る因子として細胞外基質の産生低下、増殖因子の産生低下、中膜平滑筋細胞の細胞死の可能性を考えそれぞれ検討を行うも選択的F_P拮抗薬投与による変動を見出す事はできなかった。また、F_P受容体はin situ hybridization法や免疫組織化学によって病変部へ浸潤するマクロファージに発現していることを確認した。

炎症反応と中膜変性の関連については、PCRアレイ法によりマクロファージのローリングに寄与するE-selectinが誘導され免疫組織化学にても病変部での誘導が確認できたことから、E-selectinの細胞表面への発現を抑制するcimetidineをモデル動物に投与することにより検討を行った。結果cimetidineによりマクロファージ浸潤を阻害し病変部での炎症反応を抑制する系を使用したところ中膜変性が著明に抑制されたことから、マクロファージを含む炎症反応が中膜変性を制御することが示唆された。しかし、この現象が大動脈解離のみで認められたことより既報の結果も考え合わせると大動脈病変ではマクロファージの遊走因子MCP-1とE-selectinが協調的にマクロファージの病変部への浸潤に重要であり、方や脳動脈瘤ではMCP-1が重要でありE-selectinの寄与は限定的であることが示唆され、血管サイズによるマクロファージ浸潤の機構の差異が考えられた。

また、ヒト脳動脈瘤壁に発現している事が報告されているサイトカインTNF-alphaに注目しモデル動物で解析を行ったところ、病変部でのTNF-alpha含有量が脳動脈瘤形成とともに有意に増加しTNF-alphaの遊離を制御す

る TACE (TNF-alpha converting enzyme) の活性も増加することを確認した。TNF-alpha シグナルの脳動脈瘤形成への寄与を確認するためにその受容体である TNFR1 欠損マウスを脳動脈瘤モデルに供し脳動脈瘤形成を検討したところ、マクロファージの浸潤等炎症反応の減弱とともに脳動脈瘤形成が有意に抑制される事を確認した。この結果からも、脳血管壁の炎症反応が中膜変性を制御するという仮説が支持された。

さらに、ヒト脳動脈瘤壁への脂肪沈着と壁の変性の関連を示唆する近年の報告を参考に、脳動脈瘤壁への脂肪蓄積と病態進展の関連につきモデル動物を使用し検討した。結果、ラットモデルに誘発した脳動脈瘤病変においては脳動脈瘤壁外膜部に限局して脂肪蓄積が一部の進行した瘤で検出できる事と脂肪蓄積を有する瘤ではマクロファージ浸潤が増加し中膜の菲薄化が有意に増悪している事を明らかとした。さらに脳動脈瘤壁内へのマクロファージの浸潤数と中膜菲薄化の間に有意な正の相関のある事を明らかとした。この結果から、中膜の菲薄化・変性がマクロファージ浸潤を中心とした炎症反応の結果もたらされるという仮説が支持された。さらに、脳動脈瘤壁外膜への脂肪蓄積が炎症反応の強く壁の変性の強い瘤を示すバイオマーカーとして可能性があることが示唆された。

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)

Tomohiro Aoki, Miyuki Fukuda, Masaki Nishimura, Kazuhiko Nozaki, Shuh Narumiya
Critical role of TNF-alpha-TNFR1 signaling in intracranial aneurysm formation.
Acta Neuropathologica Communications
2014; 2:34
(doi:10.1186/2051-5960-2-34)

〔学会発表〕(計7件)

青木友浩、成宮周
基礎研究から得られた慢性炎症疾患としての脳動脈瘤形成仮説と新規治療法開発の展望
第28回日本脳神経血管内治療学会学術総会
2012・11・17 仙台
青木友浩、成宮周
脳血管壁の慢性炎症疾患としての脳動脈瘤
第13回脳血管障害セミナー
2013・02・16 東京

Tomohiro Aoki
Molecular basis for the development of intracranial aneurysm.
Vasospasm2013

2013・07・03 Lucerne, Switzerland

青木友浩

脳動脈瘤形成機序の分子生物学的解析と新規創薬への展望

第14回西尾久ニューロカンファ

2013・08・21 東京

青木友浩

脳動脈瘤形成機序の分子生物学的解析と新規創薬への展望

第26回大橋ニューロカンファランス

2013・10・03 東京

青木友浩

脳動脈瘤形成機序の解析 新規創薬への展望

第15回西埼玉脳神経集談会

2014・04・18 埼玉

Tomohiro Aoki

Vascular Wall Inflammation

ICS2014

2014・06・02 Zurich, Switzerland

〔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

青木友浩 (AOKI, Tomohiro)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号: 40633144

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号：