

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861717

研究課題名(和文)薬理学的安定化による脳動脈瘤破裂予防の研究

研究課題名(英文)Pharmacological Stabilization of Intracranial Aneurysms in Mice: A Feasibility Study

研究代表者

牧野 洋(MAKINO, HIROSHI)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10397408

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、腹部大動脈瘤においてその進展を妨げる肥満細胞の抑制が脳動脈瘤の破裂を予防するかを検証し、薬物による新しい脳動脈瘤の破裂予防法の開発を目指すものである。
ラット腹部大動脈モデルにおいて、腹部大動脈瘤径の増大を抑制した、肥満細胞のケミカルメディエーター遊離抑制作用薬が、我々の脳動脈瘤マウスモデルにおいても同様に作用し、脳動脈瘤の破裂を予防するかを調べたところ、肥満細胞の抑制が、マウス脳動脈瘤モデルにおいても脳動脈瘤の破裂を抑制した。本研究結果は将来ヒトの脳動脈瘤破裂予防研究に応用できる可能性がある事を示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：In the animal model of abdominal aneurysm, inhibitor of releasing chemical mediator from the Mast cell prevented growth of abdominal aortic diameter. This feasibility study aimed to prevent intracranial aneurysm (IA) rupture using the inhibitor of releasing chemical mediator from the Mast cell. Our experiment revealed that inhibitor of releasing chemical mediator from the Mast cell prevented aneurysm rupture in our mouse model of IA. This result may implicate human IA treatment in future.

研究分野：周術期管理医学

キーワード：脳動脈瘤 肥満細胞 マウス

1. 研究開始当初の背景

近年画像診断の進歩により未破裂脳動脈瘤の発見が増加している。脳動脈瘤の破裂は社会復帰率約3割という悲惨な結末を招くため、未破裂脳動脈瘤に対し、破裂予防法としてクリッピング術やコイル塞栓術が行われてきたが、より非侵襲な薬物による脳動脈瘤の破裂予防法の開発が待たれている。

しかしながら、脳動脈瘤は薬理的安定化による脳動脈瘤の破裂予防の研究は、実際にはほとんど進んでいない。理由は有用な動物モデルが無かった事である。カリフォルニア大学サンフランシスコ校の Hashimoto らは、マウス脳血管に定位的にエラストーゼを局所投与する事により中膜弾性板の破壊を引き起こし、さらに薬剤誘発性高血圧による shear stress を脳血管に加える事により、70%のマウスに脳動脈瘤を発生する新規マウス脳動脈瘤モデルを確立した (Tada Y, Makino H, et al. A mouse model of intracranial aneurysm: technical considerations. Acta Neurochir Suppl. 2011;111:31-5)。この新規マウス脳動脈瘤モデルは、親動脈の血管径に対し動脈瘤径が大きい事が特徴で(約3~5倍以上)剖検により動脈瘤の存在を容易に確認できる。また、簡便な神経学的検査を行う事で、脳動脈瘤破裂に伴う神経学的症状の出現を診断する事が可能である。

脳動脈瘤破裂予防薬の候補として、薬理的安定化により大動脈瘤の増大・破裂予防に効果を示した薬剤に注目した。

「肥満細胞」は各種化学伝達物質(ケミカルメディエーター)の分泌を通して即時型アレルギーに関与するとされる。ヒト腹部大動脈瘤においては、瘤の外膜側に肥満細胞が瘤径に相応して増加し、対照の腹部大動脈壁に比べて「脱顆粒した肥満細胞」が数多く観察され、肥満細胞の分化や成熟に関わる stem cell factor やその受容体である c-kit のリン酸化が亢進するとの報告 (Tsuruda T. Adventitial mast cells contribute to pathogenesis in the progression of abdominal aortic aneurysm. Circ Res. 2008; 102: 1368 - 1377)がある。また同文献においては、ラット腹部大動脈モデルにおいて、肥満細胞のケミカルメディエーター遊離抑制作用を持つトラニラストが腹部大動脈瘤径の増大を抑制した。

肥満細胞の分泌顆粒のひとつであるキマーゼは MMP - 2, 9 の活性化や平滑筋細胞のアポトーシスの誘導などの作用を介して動脈瘤形成に関与している可能性が示唆されており、エラストーゼを含有したガーゼを大動脈周囲にラップして作成したハムスター大動脈瘤モデルにキマーゼ阻害薬を投与したところ、動脈瘤の発症を抑制できたと報告されている (Tsunemi K. A specific chymase inhibitor, NK3201, suppresses

development of abdominal aortic aneurysm in hamsters. J Pharmacol Exp Ther. 2004; 309: 879 - 883)。

大動脈瘤の進行を防いだ肥満細胞の抑制は、脳動脈瘤においても破裂予防の魅力的な候補といえる。

2. 研究の目的

本研究では、腹部大動脈瘤においてその進展を妨げる肥満細胞の抑制が脳動脈瘤の破裂を予防するかを検証し、薬物による新しい脳動脈瘤の破裂予防法の開発を目指す。

3. 研究の方法

マウス脳動脈瘤モデルの作成

C57/BL6 マウス 8 週齢を使用する。片腎を摘出したマウスの皮下に Deoxycorticosterone (DOCA) を投与し、1% 食塩水を飲料水として与えることで高血圧を発症させると共に、脳脊髄液中への豚膀胱エラストーゼ一回注入により作成した。モデル作成法の詳細は文献 (Tada Y, Makino H. A mouse model of intracranial aneurysm: technical considerations. Acta Neurochir Suppl. 2011;111:31-5) に譲る。

薬剤による脳動脈瘤破裂予防

概要は文献 (Makino H. Pharmacological stabilization of intracranial aneurysm in mice, a feasibility study, Stroke. 2012; 43: 2450-6) と同様である。脳動脈瘤作成開始後 6 日目から 28 日目まで破裂予防薬(肥満細胞のケミカルメディエーター遊離抑制作用薬剤: トラニラスト (400mg/kg/day)、または、クロモリナトリウム (100mg/kg/day)) を投与した。

肥満細胞欠損マウス (KitWsh) にも上記脳動脈瘤誘導を行った

神経学的所見は連日観察した。異常を示した個体を剖検し、脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血の有無を確定診断した。神経学的異常を示さなかった個体も同 28 日目に全例剖検した。

4. 研究成果

1) 肥満細胞からのケミカルメディエーター阻害作用を持つトラニラストが脳動脈瘤の破裂率を下げた。同効薬である DSCG (クロモリナトリウム) も脳動脈瘤の破裂率を下げた (図 1)。

2) 肥満細胞欠損マウス (KitWsh) においてはワイルドタイプに比べ脳動脈瘤の破裂率が低い (図 2)。との結果を得る事が出来た。

一連の研究結果は肥満細胞の抑制が、マウス脳動脈瘤モデルにおいても脳動脈瘤の破裂を抑制する事を示し、将来ヒトの脳動脈瘤破裂予防研究に応用できる可能性がある事

を示唆するものである。本研究結果は現在論文執筆中である。

図1. DSCGによる脳動脈瘤破裂予防効果

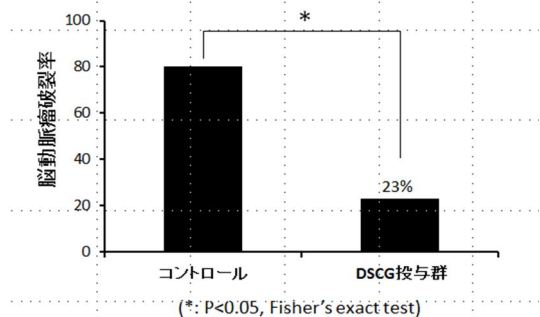
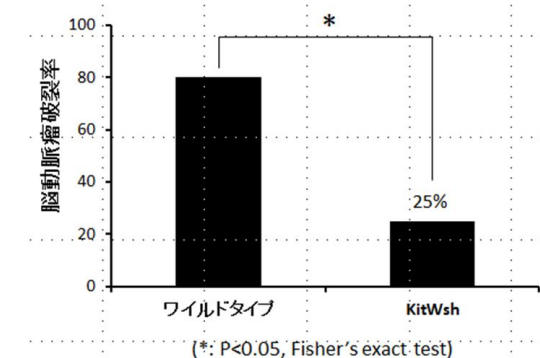


図2. 肥満細胞欠損マウス (KitWsh) では脳動脈瘤破裂率が減少した



本実験に平行して、マウス脳動脈瘤及びくも膜下出血の画像診断を実用化する研究を行った。マウスの脳動脈瘤は、その小ささゆえに、現在まで画像診断は困難とされてきたが、造影剤を注入し、マウスの脳血管系を描出した先行研究がある。しかし、脳動脈瘤やくも膜下出血を経時的に評価する為には非侵襲的な画像診断法の開発が望まれる。我々の研究グループは、3テスラの臨床用MRIに小型サドルコイルを用い、撮像法を工夫する事で、MRAにて脳動脈瘤を、MRIT2強調画像でくも膜下出血を非侵襲的に描出する事に成功した。これは世界初の研究結果であるために、World Congress of Stroke 2014にて発表し、現在論文投稿中である。

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4件)

1. Wada K, Makino H, Shimada K, Shikata F, Kuwabara A, Hashimoto T. Translational research using a mouse model of intracranial aneurysm. Transl Stroke Res. 5: 248-51, 2014
2. Tada Y, Wada K, Shimada K, Makino H, Liang I. E, Murakami S, Kudo M, Kitazato K, Nagahiro S, Hashimoto T.

Roles of Hypertension in the Rupture of Intracranial Aneurysms. Stroke. 45:579-586, 2014

3. Tada Y, Wada K, Shimada K, Makino H, Liang EI, Murakami S, Kudo M, Shikata F, Pena Silva RA, Kitazato KT, Hasan DM, Kanematsu Y, Nagahiro S, Hashimoto T. Estrogen Protects Against Intracranial Aneurysm Rupture in Ovariectomized Mice. Hypertension. 63: 1339-44, 2014
4. Tada Y, Makino H, Furukawa H, Shimada K, Wada K, Liang EI, Murakami S, Kudo M, Kung DK, Hasan DM, Kitazato KT, Nagahiro S, Lawton MT, Hashimoto T. Roles of Estrogen in the Formation of Intracranial Aneurysms in Ovariectomized Female Mice. Neurosurgery. 75: 690-5, 2014.

〔学会発表〕(計3件)

1. Wada K, Tada Y, Makino H, Kudo M, Murakami S, Shimada K, Kuwabara A, Ozaki M, Hashimoto T. Roles of Mast Cells in the Rupture of Intracranial Aneurysms. American Society of Anesthesiologists annual meeting, 2013. San Francisco
2. Kimura T, Makino H, Katoh T, Sato S. Subarachnoid Hemorrhage Decreases Isoflurane Requirement in Mouse Model of Intracranial Aneurysm. American Society of Anesthesiologists annual meeting, 2014. New Orleans
3. Makino H, Hokamura K, Natsume T, Kimura T, Kamio Y, Katoh T, Sato S, Hashimoto T, Umemura K. Serial imaging of mouse cerebral arteries using a conventional 3T MR - a feasibility study using a mouse model of intracranial aneurysm. World congress of Stroke 2014. Istanbul.

〔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 無し

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

牧野 洋 (MAKINO HIROSHI)
浜松医科大学・医学部・講師
研究者番号：10397408