

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461318

研究課題名(和文)脳塞栓症急性期治療における新規経口抗凝固薬の有用性と安全性

研究課題名(英文)Utility of direct oral anticoagulant in the treatment of acute phase cerebral embolism

研究代表者

伊藤 義彰 (Itoh, Yoshiaki)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：90265786

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、心原性脳塞栓症の予防に用いられるDirect Oral AntiCoagulation (DOAC)が心原性塞栓症急性期においても、再開通を促進し梗塞巣を縮小する効果があることを動物の心原性塞栓症モデルを用いて示したものである。臨床的にもDOAC投与症例では脳梗塞の予防だけでなく、発症時の梗塞巣が小さい、軽症ですむ、などの報告があり、脳梗塞急性期の病態解明を裏付ける有用なデータとなった。

研究成果の概要(英文)：The current in vivo study demonstrated that Direct Oral AntiCoagulant (DOAC), clinically used for prevention of cardioembolism from nonvalvular atrial fibrillation, is effective in accelerating recirculation and in reducing the size of cerebral infarction. Clinically cases treated with DOACs not only have less cerebral infarction but also smaller size and lighter sequels. The current data proved the pathophysiology.

研究分野：神経内科

キーワード：心原性脳塞栓症

1. 研究開始当初の背景

新規経口抗凝固薬(NOAC)または直接経口抗凝固薬(DOAC)は、ワルファリンに代わる脳塞栓症治療薬として実臨床で広く用いられている。DOACは慢性期の塞栓症予防に効果があることが分かっているが、急性期における作用、安全性は不明であり、特にDOAC投与下に起きる心原性塞栓症の病態について関心がもたれている。

2. 研究の目的

動物でのフィブリン血栓塞栓症モデルを確立し、DOAC前投与下に塞栓症モデルを作成し、血行動態、再開通率、出血性梗塞の頻度などを検討する。

3. 研究の方法

まず脳塞栓症の動物モデルを確立した。雄性C57BL/6マウスを用い、1)左総頸動脈(CCA)結紮後、内頸動脈(ICA)に塞栓子を注入した低灌流圧群と、2)CCA結紮を行わず左外頸動脈(ECA)を結紮後、ECAを経由してICAに塞栓子を注入した正常灌流圧群を比較した。直径13,24,40,69 μm の4種類の蛍光microsphereを塞栓子として用い、頭窓を介して蛍光顕微鏡下で脳表での分布を観察した。表1に動脈血液ガス分析の結果を示す。

Table 1. Physiological variables during microsphere injection (mean \pm SD)

	Before ligation	After ligation	After microsphere injection
Arterial pH	7.30 \pm 0.28	7.30 \pm 0.14	7.34 \pm 0.01
Arterial pCO ₂ (Torr)	33.0 \pm 2.7	30.0 \pm 2.1	36.8 \pm 2.0
Arterial pO ₂ (Torr)	97.5 \pm 4.8	104.4 \pm 2.1	90.1 \pm 7.8
Arterial hematocrit (%)	45.0 \pm 4.2	39.0 \pm 4.6	39.0 \pm 1.0

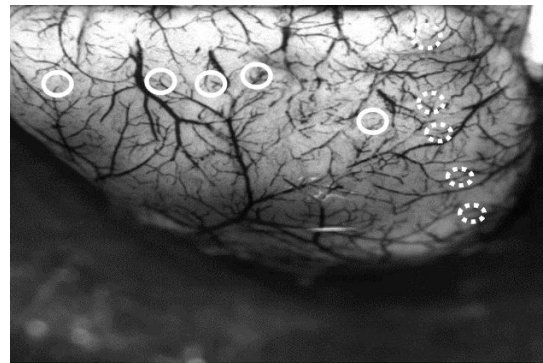


図1. 軟膜動脈吻合部 (○はACAとMCA、点線○はMCAとPCA)

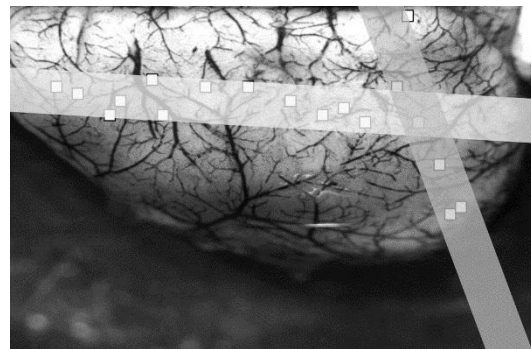


図2. 吻合部を含む境界領域の設定。吻合部を95%含む直線帯を計算した。

4. 研究成果

その結果、Microsphereの全皮質領域に対する境界領域への分布率(低灌流圧群)は、32 \pm 14% (粒子径13 μm)、59 \pm 7% (24 μm)、40 \pm 12% (40 μm)、14 \pm 13% (69 μm)と、小粒子は血流に応じて均等に分布し、中粒子は境界領域に、大粒子は皮質動脈に塞栓することが示され、灌流圧による差は認めなかった。

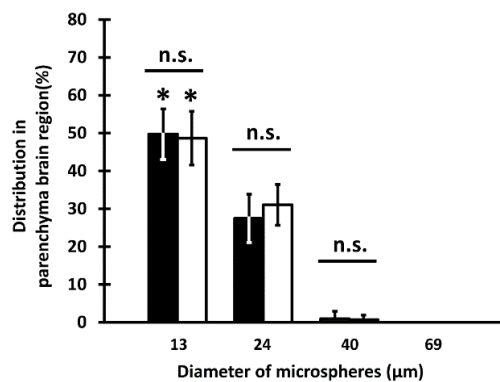


図3. マイクロスフェアの粒子径と深部脳

実質への分布。小径のマイクロスフェアは脳表よりも深部への分布率が高い。

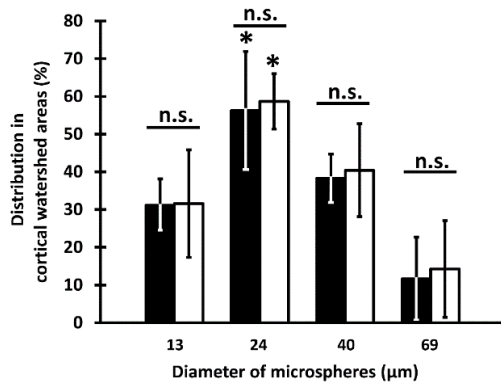


図 4. マイクロスフェアの粒子径と境界領域への分布。24μm の中サイズ径のマイクロスフェアが最も境界領域にとどまる割合が高い。

次にフィブリン血栓による塞栓症モデルを確立した。マウスから採血した血液にトロンピンを作用させ一晩インキュベーターで反応させフィブリン血栓を作成、メスにて細分化したのちフィルターをかけて塞栓子の径を調整した。Microsphere 同様に大粒子は皮質動脈を閉塞することを確認し、心房細動などで認められる心原性塞栓症のモデルとして有用であることを確認した(データ投稿中)。

最後に、あらかじめ Direct Oral AntiCoagulation (DOAC)の一つであるリバーロキサバンを混餌したマウスに、フィブリン血栓塞栓症を誘導したところ、プラセボ群に比較して再開通率が上昇し、再開通までの時間が有意に短縮した(データ脳卒中学会発表、投稿中)。

本研究で得られたデータは臨床での塞栓性脳梗塞の病態理解に大変有用であり、急性期の治療、慢性期の予防を考えるうえで重要な指標になると考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

- 1) Mino T, Saito H, Takeuchi J, Ito K, Takeda A, Ataka S, Itoh Y. Cerebral blood flow abnormality in clinically diagnosed Alzheimer's disease patients with or without amyloid accumulation on positron emission tomography. *Neurology and Clinical Neuroscience* 査読有 2017; 5(2): 55-59 DOI: 10.1111/ncn3.12107
- 2) Yamada S, Oki K, Itoh Y, Kuroda S, Houkin K, Tominaga T, Miyamoto S, Hashimoto N, Suzuki N, behalf of the Research Committee on Spontaneous Occlusion of the Circle of Willis (Moyamoya Disease). Effects of Surgery and Antiplatelet Therapy in 10-year follow-up from the Registry Study of Research Committee on Moyamoya Disease in Japan. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 査読有 2016; 25: 340-349 DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.10.003
- 3) Hatsuta H, Takao M, Nakano Y, Nogami A, Uchino A, Sumikura H, Itoh Y. Reduction of Small Fibers of Thoracic Ventral Roots and Neurons of Intermediolateral Nucleus in Parkinson Disease and Dementia with Lewy Bodies. *Journal of Parkinson's disease* 査読有 2016; 6(2): 325-34 DOI: 10.3233/JPD-150773
- 4) Seki M, Shibata M, Itoh Y, Suzuki N. Intracerebral Hemorrhage due to Venous Thrombosis of Developmental Venous Anomaly during Pregnancy. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 査読有 2015; 24: 185-187 DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015

- .03.035
- 5) Unekawa M, Tomita Y, Toriumi H, Osada T, Masamoto K, Kawaguchi H, Itoh Y, Kanno, I. Suzuki, N. Hyperperfusion counteracted by transient rapid vasoconstriction followed by long-lasting oligemia induced by cortical spreading depression in anesthetized mice. J Cereb Blood Flow Metab. 査読有 2015; 35(4):689-698 DOI: 10.1038/jcbfm.2014.250
- 6) Masamoto K, Takuwa H, Seki C, Taniguchi J, Itoh Y, Tomita Y, Toriumi H, Unekawa M, Kawaguchi H, Ito H, Suzuki N, Kanno I. Microvascular sprouting, extension, and creation of new capillary connection with adaptation of the neighboring astrocytes in adult mouse cortex under chronic hypoxia. J Cereb Blood Flow Metab 査読有 2015; 34(2):325-331 DOI: 10.1038/jcbfm.2013.201
- 7) Murata, R. Takada, Y. Takuwa, H. Kawaguchi, H. Ito, H. Kanno, I. Tottori, N. Yamada, Y. Tomita, Y. Itoh, Y. Suzuki, N. Yamada, K. Masamoto, K. Vessel specific imaging of glucose transfer with fluorescent glucose analogue in anesthetized mouse cortex. Adv Exp Med Biol. 査読有 2014; 812:241-246 DOI: 10.1007/978-1-4939-0620-8_32
- 8) Sekiguchi Y, Takuwa H, Kawaguchi H, Kikuchi T, Okada E, Kanno I, Ito, H. Tomita, Y. Itoh Y. Suzuki, N. Sudo, R. Tanishita, K. Masamoto, K. Pial arteries respond earlier than penetrating arterioles to neural activation in the somatosensory cortex in awake mice exposed to chronic hypoxia: An additional mechanism to proximal integration signaling? J Cereb Blood Flow Metab. 査読有 34:1761-1770 . 2014 DOI: 10.1038/jcbfm.2014.140
- [学会発表](計7件)
- 1) 伊藤義彰 脳微小循環から見た脳血管攣縮の機序. 脳卒中学会 2017 (招待講演) 2017年3月16日、大阪国際会議場 (大阪府大阪市)
- 2) Y Tomita, M Unekawa, Y Itoh et al., Acceleration of red blood cells in intraparenchymal capillaries and dilation of arterial diameter in response to hypercapnia were diminished after passage of cortical spreading depression in anesthetized mice. 微小循環学会、2016年9月24日、コクヨホール (東京都)
- 3) M Katsumata, N Tsukada, K Oki, Y Itoh. et al., Rivaroxaban reduced the sizes of fibrin emboli in the intracranial arteries in mice even after embolic stroke occurred. 微小循環学会、2016年9月23日、コクヨホール (東京都)
- 4) Y Itoh, I Hasegawa, H Saito et.al., Amyloid accumulation in patients with dementia with Lewy bodies and with Parkinson's disease with dementia. CME2016, 2016年8月5日、栃木県総合文化センター (栃木県宇都宮市)
- 5) 三野俊和、長谷川樹、伊藤義彰ほか. 脳アミロイドアンギオパチー患者における PIB 集積の検討、日本神経学会総会、2016年5月18日、神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)
- 6) Y Itoh. Distribution in CBF Decrease in Clinically Diagnosed Alzheimer Disease Patients with vs. without

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

Amyloid β Accumulation on PET, CME
2015, 2015年6月27日、岡山コンベン
ションセンター(岡山県岡山市)

- 7) N Tsukada, M Katsumata, K Oki, T Abe,
S Takahashi, Y Itoh, N Suzuki.
MICROSPHERE EMBOLUS FROM THE COMMON
CAROTID ARTERY CAN PRODUCE INFARCTION
IN THE WATERSHED AREA IN MICE, Brain
2015, 2015年6月27日、カナダ(バン
クーバー)

[図書](計1件)

- 1) 伊藤義彰ほか. 中外医学社、脳血管障害
(神経内科 Clinical Question &
Pearls) 2016, 329(104-112, 194-200)

[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: 大阪市立大学大学院医学研究
科神経内科

[http://www.med.osaka-cu.ac.jp/Neurology
/index.html](http://www.med.osaka-cu.ac.jp/Neurology/index.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 義彰(ITOH, Yoshiaki)
大阪市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 90265786

(2) 研究分担者

山田 哲(YAMADA, Satoshi)
慶應義塾大学・医学部(信濃町)・
講師(非常勤)
研究者番号: 80445296

大木 宏一(OHKI, Koichi)
慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号: 10348633

畝川 美悠紀(UNEKAWA, Miyuki)
慶應義塾大学・医学部(信濃町)・
特任講師

研究者番号: 10548481

安部 貴人(ABE, Takato)
大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 30365233

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし