

課題番号 1

# ラパマイシン標的蛋白質の多面的効果に着目した くも膜下出血の遅発性脳血管攣縮に対する早期治療戦略の開発

[1] 組織

代表者：石川 達哉  
(秋田県立脳血管研究センター)

対応者：武藤 達士  
瀧 靖之  
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：武藤 友子  
(神戸松蔭女子学院大学)  
中村 和浩  
(秋田県立脳血管研究センター)

研究費：物件費20万円

[2] 研究経過

【目的】くも膜下出血 (subarachnoid hemorrhage; SAH) は、脳卒中による突然死の最大の原因として知られる重篤な疾患である。近年の高齢人口の増加に伴い、SAH を含めた脳卒中発症年齢も上がり、合併症を含めた病態の複雑化も指摘されており、老化研究との融合は必須課題とされる。ラパマイシンは、イースター島の土壌から発見されたマクロライド系物質として開発された、mammalian target of rapamycin (mTOR) の特異的阻害薬である。脳外傷や脳虚血モデルでは、低酸素誘導因子の活性化を介してオートファジー促進がおこり、二次性の神経損傷が惹起される機序が推測されている。

本研究では、ラパマイシンによるオートファジーの誘導と神経保護作用に着目し、SAH 後の新たな治療戦略の開発を目的としている。さらに高齢者 SAH に対する脳保護作用にも注目し、老化促進モデルマウスでの評価を行う。本結果を基に、臨床応用を視野に入れた SAH の予後改善に繋げることを大きな目標としている。

【計画】 C57BL/6 マウスを用いて、5-0 ナイロン糸を用いた血管内穿通法により SAH を作成する。ラパマイシンは、SAH 術後から全身投与(10mg/kg, ip)を2日間行う。ラパマイシン投与群と非投与(溶媒投与)群において脳 MRI (T2\*WI による血腫分布, CASL 法による脳血流[CBF], DWI および T2WI による遅発性脳梗塞の評価), 全脳エコーによる中大脳動脈最

大流速 (PFV), 脳組織酸素飽和度 (SbtO<sub>2</sub>), 神経行動評価 (Open-Field test) ならびに病理組織解析 (抗 GFAP 抗体, 抗 Iba1 抗体, Mn-SOD 抗体, iNOS 抗体等) につき比較検討する。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度はラパマイシンを SAH 作出後の通常マウスに投与して早期脳損傷に及ぼす効果を検証する基礎実験を行った。その結果、急性期の mFV や CBF 低下に関してはラパマイシン群と対照群で有意差は認められなかったものの、rSO<sub>2</sub> の低下はラパマイシン群で有意に軽減させることができた (図1)。

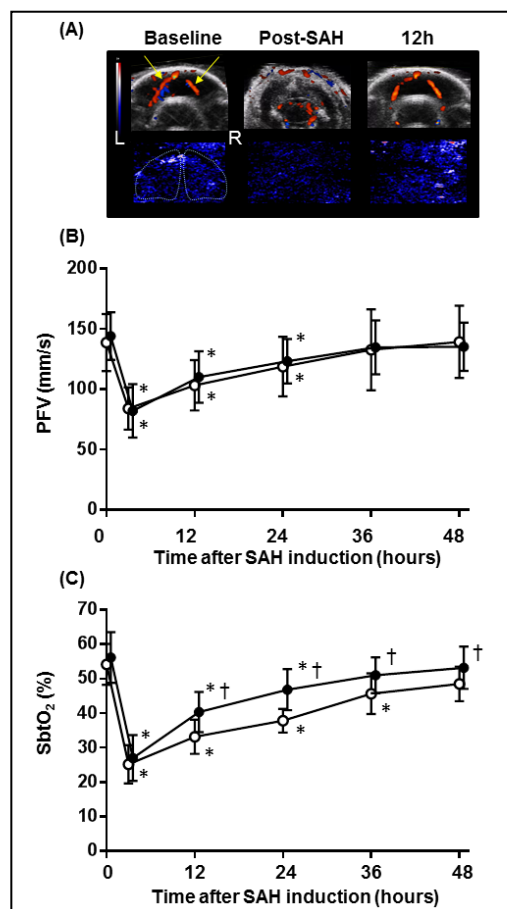


図1. 高周波エコーと光音響共鳴法(A: 上, 下図)による PFV (B)および SbtO<sub>2</sub> (C)の経時変化。

また病理組織では、対照群（図 2 A）と比べてラパマイシン群（図 2 B）で海馬 CA3 の神経変性が減弱しており、神経行動評価での中心滞在時間の向上に代表される認知機能改善に一定の効果がある可能性が示唆された。今後は老化促進マウスによる、SAH 後の神経保護効果を中心に実証していく予定としている。

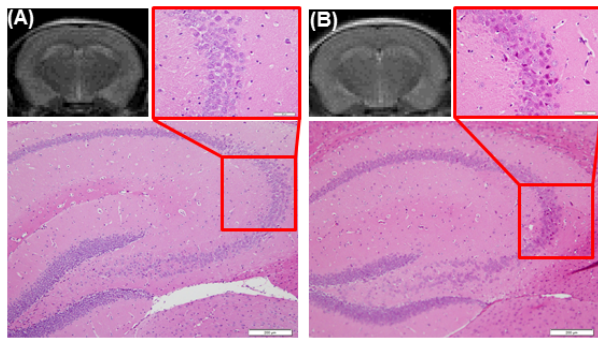


図 2. H-E 染色による海馬スライス像(A, 対照 ; B, ラパマイシン投与例)。左上は同レベルによる MRI T2 強調画像。いずれの群でも梗塞巣は認められていない。左上は下図の x4 拡大像 (scale bar = 200  $\mu$ m)。

### (3-2) 波及効果と発展性など

加齢医学研究所における共同研究を通して学外研究者との交流が活性化し、国内外の研究者とともに SAH の動物モデルの研究を進める機会を得た。今後は本研究のアピールに加えて、新研究領域の開拓を進めていきたい。

### [4] 成果資料

1. 佐々木一益, 武藤達士, 水流功春, 瀧 靖之, Jose Suarez, 石川達哉. SAH モデルにおける mTOR 経路を介した早期脳損傷の抑制効果の検証. STROKE 2018 第 34 回スパズムシンポジウム. 2018 年 3 月 15 日 福岡.
2. Sasaki K, Mutoh T, Nakamura K, Kojima I, Taki Y, Suarez JI, Ishikawa T. MRI-based in vivo assessment of early cerebral infarction in a mouse filament perforation model of subarachnoid hemorrhage. Neurosci Lett. 2017; 653:173-176.