

課題番号 16

中枢性メラトニン/ラパマイシン標的蛋白クロストークに着目した くも膜下出血の早期脳損傷に対する制御機構の解明

[1] 組織

代表者： 守屋 孝洋
(奥羽大学薬学部)

対応者： 武藤 達士
(東北大学加齢医学研究所)

分担者： 山本 修三
(東北大学病院)

武藤 友子
(神戸松蔭こころのケア・センター)

関澤 信一
(東京大学大学院農学生命科学研究科)

栃内 亮太
(東京大学大学院農学生命科学研究科)

近本 明俊
(東京大学大学院農学生命科学研究科)

研究費：物件費 18 万円

[2] 研究経過

【目的】脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血(subarachnoid hemorrhage: SAH)は、予後不良な脳卒中疾患の一つである。その最大の原因として、経過中に約半数に起こる遅発性脳虚血/脳血管攣縮がある。近年、その前駆段階の病態として、早期脳損傷(early brain injury: EBI)が影響している可能性が指摘されており、世界的な研究の流れはEBIの機序解明と治療法の開発にシフトしつつある。

ラパマイシン(Rap)は、ほ乳類ラパマイシン標的蛋白(mammalian target of rapamycin: mTOR)シグナル伝達経路の阻害を主体としたMAPK経路の制御に加え、オートファジー促進や抗炎症・抗酸化作用、免疫抑制作用といった多面的効果を有することが知られている。一方、メラトニン(Me1)は、松果体から分泌されるホルモンで、視交叉上核に存在するMT1及MT2受容体作動薬として概日リズムの位相調節や哺乳類の季節繁殖の制御等を司る。Me1とその代謝産物は、高容量においても細胞毒性の低い強力な抗酸化物質として、虚血性脳卒中におけるマイトファジーを介した抗炎症作用と抗アポトーシス作用を有する可能性が注目されている。

本研究の目的は、メラトニン受容体とラパマイシン標的蛋白(Me1-mTOR)伝達経路の中枢性制御機構を明らかにすることにある

【計画】C57BL/6マウスを用いてendovascular perforation法によりSAHモデルを作成する[1]。In vivoでの薬剤microinjection用カテーテルを定位手術により側脳室内に留置する。高解像度超音波エコー、光音響共鳴装置と脳MRIを用いて、SAH急性期の脳循環動態および心機能のIn vivoイメージングと神経行動評価を行う[1]。最後に摘出脳を用いて、グリア細胞・オートファジーの変化につき分析する。

【経過】研究者間で3ヶ月毎に研究の進捗確認を行い(主に東京大学および加齢研:web 会議併用)、これまでの手法を組み合わせたマルチモダリティ・イメージングシステムを構築した(図1)。

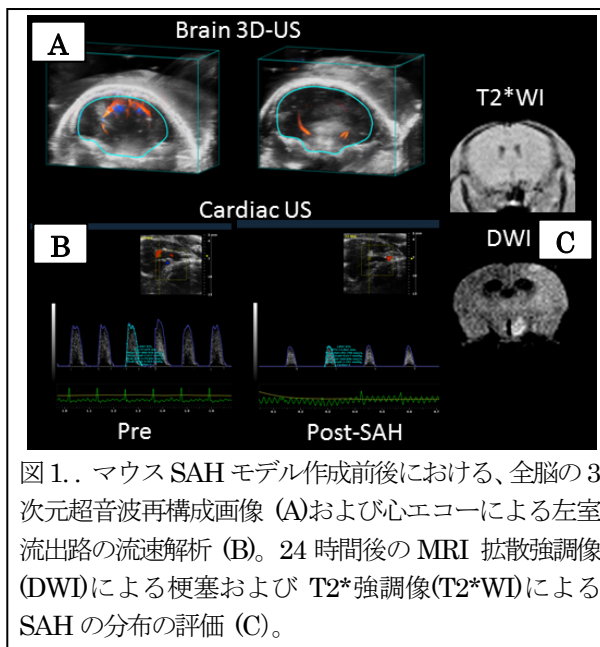


図1. マウス SAH モデル作成前後における、全脳の3次元超音波再構成画像 (A)および心エコーによる左室流出路の流速解析 (B)。24 時間後の MRI 拡散強調像 (DWI)による梗塞および T2*強調像(T2*WI)によるSAHの分布の評価 (C)。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

まず予備実験とした、ラパマイシンならびにメラトニンの脳室内投与量を設定した。我々のこれまでの投与量と同力価での投与が、全身循環に影響を及ぼさない至適用量と推定された [2, 3]。

現在、SAH 作成後の脳室内投与実験を開始しており、各薬剤ごとのデータが集積されつつある。Mel、Rap いずれも 24 時間後の脳血流量の低下(超音波エコーの血流シグナルより算出された%vascularity)は、非投与群よりも有意に軽減できることが明らかとなっている。現在、Mel 阻害薬ならびに Mel-Rap 併用投与の効果を検証中である。

今後、摘出脳における病理組織学的検討を実施する予定で、グリア細胞の数、密度等を検討していく。

(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疾患モデルを用いた *In vivo* イメージングの研究を進める機会を得た。特に Mel は、SAH 後の日内リズム形成にも関与していることから、Rap による相互作用を含めた時間生物学的な検証も必要と考えられる。今後は継続研究としてのデータ蓄積に加えて、新研究領域の開拓を進めていきたい。

[4] 成果資料

1. Yamamoto S, Mutoh T, Sasaki K, Mutoh T, Tatewaki Y, Taki Y. Non-invasive three-dimensional power Doppler imaging for the assessment of acute cerebral blood flow alteration in a mouse model of subarachnoid haemorrhage. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2019; 46(1):99-102.
2. Mutoh T, Shibata S, Korf HW, Okamura H. Melatonin modulates the light-induced sympathoexcitation and vagal suppression with participation of the suprachiasmatic nucleus in mice. *J Physiol.* 2003; 547(Pt 1):317-32.
3. Yamamoto S, Mutoh T, Sasaki K, Mutoh T, Taki Y. Central action of rapamycin on early ischemic injury and related cardiac depression following experimental subarachnoid hemorrhage. *Brain Res Bull.* 2019; 144:85-91.