

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 下田祐介

学位論文題名

Novel Large Cerebral Aneurysm Model Rat with Intraperitoneal

Beta-AminoPropioNitril-Fumarate

（BAPN-F 腹腔内投与を用いた大型脳動脈瘤モデルラットの開発）

【背景・目的】 くも膜下出血は、現在の医療水準をもってしても、死亡率が 10～67%と高く要介助以下の転帰不良例が約 40%存在しており、その発症予防と治療は重要な問題である。くも膜下出血の最大の原因である未破裂脳動脈瘤に関してクリッピング術やコイル塞栓術など具体的な治療方法は確立されている一方で、予防手段として確立したものはなく早期構築が望まれる。近年、ヒト脳動脈瘤の増大破裂機構を摸索する研究として流体力学的解析や分子生物学的解析が注目されており、ずり応力 wall shear stress や慢性炎症と瘤の増大との関係が示唆されているが、いまだ解明されていない点が多い。1978 年にラット脳動脈瘤モデルである Hashimoto モデルが報告されて以来、脳動脈瘤の病態解析の研究が革新的に進歩してきた。これを模倣して、現在までにいくつかの動脈瘤モデルが報告されてきたが、どのモデルも誘導される瘤をヒトに置き換えると初期病変とも考えられる極小の瘤が主体であり、瘤の増大・破裂機構の研究に最適とは言えない。脳動脈瘤の増大・破裂機構を究明するため、増大破裂しうる大型脳動脈瘤モデルラットの作成を目指すのが本研究の目的である。実験を進めていく中でパイロット実験から得られたデータより導き出された（組織障害の程度）×（時間経過）の積として算出される「力積 impulse」がある閾値を越えると動脈瘤は誘導されるという仮説（impulse hypothesis）を検証するべく、従来の Hashimoto モデルに「高容量薬剤腹腔内投与」という改変を加えて検討した。

【対象と方法】全身麻酔下に 7 週齢雄性 SD ラットに左総頸動脈結紮、両側腎動脈後枝結紮を施行。術後より 8%NaCl 含有食餌 beta-aminopropionitril-fumarate (BAPN-F)の腹腔内投与を開始した。BAPN-F を用いること、投与経路を腹腔内投与へと変更したことが修正点である。飼育期間が終了した時点で sacrifice し生理食塩水で還流処置後に 10%パラホルムアルデヒドで環流固定し断頭。摘出した脳を 30% sucrose で浸透圧を調整した後に光学顕微鏡下に Willis 動脈輪を剥離し、瘤形成の有無を評価した。BAPN-F 投与量と飼育期間で 1 群 (n=31, BAPN-F 400mg/kg, 飼育期間 4w), 2 群 (n=31, 400mg/kg, 8w), 3 群 (n=27, 2800mg/kg, 8w), 4 群 (n=13, 2800mg/kg, 12w) へ分類し、血圧変化、死亡率、瘤誘導率などを評価した。

最好発部位である前大脳動脈と嗅動脈 (ACA-OA)分岐部と、瘤が誘導された部位は6 μ m 厚に薄切し内弾性板を評価するため Elastica-Masson 染色で評価した。

【結果】いずれの群も術後 7 日目以降で術前と比較して有意な血圧の上昇が確認された。High-dose の 3 群 4 群では単回投与では致死性的であったが、半量を 2 連日投与することにより長期生存を得た。1 群 2 群を比較すると死亡率 (12.9% vs 16.1% = P 0.719) や誘導率 (19.4% vs 29% P =0.374) に有意差を認めなかった。3 群 4 群の比較でも死亡率 (7.4% vs 30.1% P =0.053) や誘導率 (85.2% vs 84.6% P =0.871) に有意差を認めなかった。加えて 3 群の 22.2%、4 群の 23.1% に大型瘤が誘導された。ACA-OA 分岐部瘤のサイズは 1 群から 4 群で、それぞれ $69 \pm 29.3 \mu\text{m}$, $64.3 \pm 11.5 \mu\text{m}$, $116.4 \pm 50.6 \mu\text{m}$, $163.3 \pm 51.6 \mu\text{m}$ であり、1 群 2 群の比較では統計学的な有意差は認めなかったが、2 群 3 群の比較 (P =0.0495) と 3 群 4 群の比較 (P =0.00424) で有意差が認められた。

【考察】BAPN-F はニトロ化合物であり、その薬理特性として血管拡張作用が知られている。それにもかかわらず、我々のモデルは実験的高血圧の誘導に成功した。これは、腎動脈の結紮による腎性高血圧と高塩分食餌の Na 負荷による高血圧が、BAPN-F の薬理作用を上回った結果と考えられた。同一飼育期間であれば BAPN-F の量が多い方が、同一高容量であれば飼育期間の長い方が、動脈瘤サイズが大きくなるという結果であった。過去に BAPN は結合織が形成される過程において影響を及ぼすとの報告がある。本実験では 2 群 3 群の比較において術後 8 週までは BAPN-F の高容量投与群で誘導率が高く、3 群 4 群の比較において術後 8 週を超えた群において誘導率に差はないが、サイズに有意な差が生じるといった結果であった。これは、術後 8 週 (15 週齢) までは血管壁が immature なため誘導率に差が認められ、術後 8 週 (15 週齢) を超過すると immature な瘤化した部分にのみ BAPN-F が作用するため大型化するのではないかと考察された。ここから、本実験で誘導された瘤は、さらなる長期間飼育で瘤がより大型化する可能性が考えられた。Limitation として破裂例が存在しないことが挙げられる。しかし、さらに impulse を増大させたパイロットスタディで破裂例が確認された。数を増やし観察・検討してからではないと結論は出せないが前述の impulse hypothesis は、「impulse が瘤を誘導する」とどまらず、「増大させ、ついには破裂へと導く」という仮説にまで発展できる可能性を秘めていた。

【結論】BAPN-F への変更、腹腔内投与への変更でも血圧や生存率低下はみられず、長期生存可能であり、80%という高い動脈瘤の誘導率を示した。その20%は大型瘤であった。腹腔内投与は手技が簡便であり impulse の調整も容易であるという利点を有している。誘導された瘤が時間経過とともに増大するという結果も他には類を見ない特徴である。手技に伴う有害事象は出現せず、安全かつ簡便な手術であるため、モデル動物としての条件を満たしていると考えられた。(組織障害の程度) と (時間経過) の積として算出される impulse が動脈瘤を誘導・増大させるという impulse hypothesis は、動脈瘤の病態を解明するにあたり key となると考えられた。従来モデルと比較して死亡率に遜色なく、誘導率が高く、本モデルを詳細に検討することにより、脳動脈瘤増大破裂機構の解明への布石となりうる。