

学際的研究による血行力学応力負荷による血管病の発症機構の解明

青木友浩

東京慈恵会医科大学 薬理学講座

【研究の背景】

血管病の中には、未だに予後の悪いものが存在する。典型的な例として、脳動脈瘤があげられる。脳動脈瘤は、くも膜下出血の主要な原因疾患である。脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血は、未だに突然死が 25%、全死亡率が 50%に至り、本邦のみでも年間 10,000 人超の死亡数があるなど予後不良な疾患である。近年の脳ドックの普及や画像診断機器の普及と性能の向上等により、脳動脈瘤が未破裂の状態で見られる機会が増えてきている。そのために、脳動脈瘤の破裂予防のための予防的外科治療も実施されている。脳動脈瘤の外科治療法には、開頭手術によるクリッピング術と血管内治療の 2 つの選択肢がある。そして、脳動脈瘤の部位や形態といった病変部の特徴に加えて年齢や併存疾患といった症例背景が総合的に判断され、治療適応判断や治療法の選択が行われる。一方で、より非侵襲的な薬物治療法は未だに開発されていない。

脳動脈瘤の病態は、血流により制御を受けることが種々の研究より明らかとなっている。我々は、独自技術である脳動脈瘤モデル動物を駆使し脳動脈瘤の病態解明に主体的役割を果たしてきた。ここで、脳動脈瘤の発生過程で血流により発生部位の内皮細胞に負荷される高いずり応力が脳動脈瘤の誘因であることが想定されているも、高いずり応力が脳動脈瘤をどのように誘発するのかの機構は明らかとなっていない。また、内皮細胞においてずり応力負荷を感知し血管拡張等の血管の反応を誘導する内皮細胞内の情報伝達に転換する機構として、P2X4 (P2X purinoceptor 4) が同定されている。

【目 的】

血行応力負荷依存的な血管病の発症進展機構の解明のために、血行応力負荷として高いずり応力を誘発される疾患として脳動脈瘤を対象とした。そして、高いずり応力依存的な脳動脈瘤発症機構の解明を目的とした。

【方 法】

脳動脈瘤を血行力学応力負荷の元で誘発するモデル動物(ラット)はすでに確立済みである。本モデル動物では、片側総頸動脈閉塞により対側の脳血管分岐部への血流量を代償的に増加させることで、閉塞側と対側の脳血管分岐部に脳動脈瘤病変を誘発させる。当該モデル動物に、新規に樹立した P2X4 の遺伝子欠損ラットを供するないし選択的 P2X4 阻害薬を投与することにより、脳動脈瘤発生に対する P2X4 の寄与を検証した。選択的 P2X4 阻害薬として使用した NC-2600 の高いずり応力下での P2X4 の機能の阻害活性については、流れ負荷を培養内皮細胞に課す細胞実験系を使用し、P2X4 の活性化により細胞内に流入するCaイオンをCaインディケータにより可視化定量した。また、ヒトへの外挿性を確認するために、ヒト脳動脈瘤標本を使用し、P2X4 の発現を免疫組織化学により確認した。

【結 果】

- 作出した P2X4 欠損ラットにおいて、ずり応力依存的な生命現象として知られる狭窄後拡張や血流負荷下での血管拡張反応が減弱していることを確認した。
- P2X4 のホモ欠損により、モデル動物での脳動脈瘤発生が有意に抑制された。

- 培養血管内皮細胞にずり応力を負荷し P2X4 の活性依存的に細胞内に流入する Ca イオン Ca インディケータにて検出することで定量した。そして、P2X4 阻害薬 NC-2600 (比較として P2X4 阻害活性が報告されている Paroxetine を使用) の P2X4 依存的 Ca イオン流入に対する阻害活性を検証し、既知の Paroxetine よりも数百倍阻害活性が高く nM オーダーであることを確認した。
- NC-2600 の投与により、モデル動物での脳動脈瘤発生が有意に抑制された。
- NC-2600 による脳動脈瘤発生抑制効果は、P2X4 欠損により解除された。すなわち、NC-2600 の脳動脈瘤発生抑制効果が P2X4 依存的であることを確認した。
- 脳動脈瘤抑制効果を認めた血中濃度は、混餌投与自由摂取下での投与 14 個体平均値で 420.14 ng/mL であった。別検討から得た血漿タンパク結合率 97.8 %に基づくと、非結合型は 9.24 ng/mL となる。本結果より、ヒトでの臨床試験の際の投与量を 20 mg/日と計算した。

【考 察】

血管病において、内部を流れる血流からの負荷は病態を制御する最上流の因子として機能している。しかし、下流と言える病変部組織内での病態制御機構としての慢性炎症反応の分子機構の多くが明らかとされている中で、果たして血流による負荷がどのようにこれら慢性炎症反応を誘発するかの機構はいまだ明らかとなっていない部分が多い。ここで、病態を制御する血流による負荷には、ずり応力、乱流、伸展等が知られている。これらの負荷がどのような分子機構で血管病病態を誘発するかを知ることは、血管病病態制御機構のミッシングピースを埋め全容解明に直結することとなる。その点で、当該研究で見出した P2X4 はそのような、ミッシングピースを構成する因子の一つである。

さらに、P2X4 の活性化の上流では流れ負荷を受けた血管内皮細胞の細胞膜が流動性を変容させ P2X4 等膜関連蛋白質の活性調整を行う機構が存在することが細胞実験から明らかとなりつつある。よって、血管組織において正常から病態に遷移する過程でこのような細胞膜物性がどのように変容していくのか、その下流でどのような分子機構が制御されるのかをライブイメージング解析等で明らかとしていくことにより、血管病の全容解明が可能となることが見込まれる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

当該研究開発の結果は、P2X4 が脳動脈瘤の発生や再発を予防するための創薬標的足り得ることと、選択 P2X4 阻害薬が脳動脈瘤の発生や再発を抑制するための薬物となり得ることを示した。そして、当該研究開発の結果を持ち、今後医師主導治験にて NC-2600 を脳動脈瘤の治療薬として検討すべく準備を開始している。

上記のように、当該研究開発の成果をもって、未だ薬物治療法が存在しない脳動脈瘤に対しての初の薬物治療法開発の可能性が見出された。

【参考・引用文献】

Isao Ono, Masahiko Itani, Akihiro Okada, Kimiko Yamamoto, Akitsugu Kawashima, Yoshiki Arakawa, Tomohiro Aoki
Pharmacological inhibition of P2RX4 receptor as a potential therapeutic strategy to prevent intracranial aneurysm formation.
Experimental Neurology 384: 115061, 2024. doi: 10.1016/j.expneurol.2024.