

脳血管攣縮に対する遺伝子治療の試み
(脳血管の遺伝子導入に関する基礎的研究)

課題番号：10671326

平成10年度—平成12年度科学研究費補助金

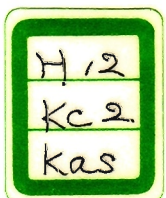
(基盤研究(C)(2))

研究成果報告書



平成13年3月1日

研究代表者 糟谷英俊 (東京女子医科大学医学部助手)



はしがき

くも膜下出血後の脳血管攣縮に対する予防治療薬はこれまで多数開発されてきたが、十分効果の期待できる薬剤は未だない。我々はいちはやく分子生物学的手法を脳血管攣縮の研究に用い、これまで国内外で高い評価を受けてきた。これまでの研究成果、技術を元に、脳血管攣縮に対する遺伝子治療に注目した。脳血管への遺伝子導入の手技の確立を中心に、脳血管攣縮に最も関与する遺伝子の探索を目的とした。

- (1) カチオニックリポソームをベクターとして選びイヌくも膜下出血モデルを用いて KF-kB decoy を大槽内に注入し、脳血管攣縮の程度を脳血管撮影で比較したが、効果は十分とはいえなかった。次に蛍光色素でラベルした decoy を用いたが、くも膜下出血時の脳主幹動脈へのトランスフェクションは十分とはいえないばかりか、脳実質にもかなりトランスフェクションされていた。KF-kB decoy の効果以前に、ベクターを一回髄液注入するだけで、脳主幹動脈に選択的にトランスフェクションさせるには限界があると考えられた。
- (2) ポリ乳酸グリコール酸を基材として用いたドラッグデリバリーシステムを開発した。薬剤には容量一効果のはっきりとわかる血管拡張薬である、パパベリンとニカルジピンを用いた。十分な脳血管攣縮の予防効果は得られた。血管拡張作用が強いパパベリンはニカルジピンの100倍の量を要した。この原因として、血管周囲血腫の薬剤の濃度の測定から、薬剤の脂溶性が関与していると考えられた。また、脳血管攣縮の予防効果はドラッグデリバリーシステムを留置した部位からはなれた血管にはなかった。この結果を念頭に、今後の脳血管への遺伝子治療を考えていく必要がある。
- (3) 攣縮血管においては蛋白、遺伝子レベルで変化がおこり、持続的な収縮を司っていると考えられる。遺伝子治療に用いる遺伝子は持続的収縮に到る転写制御経路で最も上流である必要がある。これを調べるため、differential display 法と DNA アレイ法、TaqMan 法などを用いて攣縮血管での遺伝子発現の特徴を検討した。サイトカインなど炎症に関する遺伝子の発現が著明に増加しており、血管壁での炎症が持続的な収縮に関与すると考えられた。

研究組織

研究代表者：糟谷英俊（東京女子医科大学医学部助手）

研究分担者：恩田英明（東京女子医科大学医学部助手）

研究分担者：笹原篤（東京女子医科大学医学部助手）

研究分担者：川島明次（東京女子医科大学医学部助手）

研究分担者：藍原康雄（東京女子医科大学医学部助手）

研究経費

平成10年度 1、300千円

平成11年度 800千円

平成12年度 900千円

計 2,060千円

研究発表

(1) 学会誌等

1. Shiokawa K, Kasuya H, Miyajima M, Izawa M, Takakura K: Prophylactic effect of papaverine prolonged-release pellet on cerebral vasospasm in dogs. *Neurosurgery* 42:109-116, 1998
2. Kasuya H, Kawashima, Namiki K, Shimizu T, Takakura K: Metabolic prophiles in patients with subarachnoid hemorrhage followed by early surgery. *Neurosurgery* 42: 1268-1275, 1998
3. Kasuya H, Shimizu T, Nakamura T, Takakura K: Kabuki make-up syndrome and report of a case with hydrocephalus. *Child's Nervous System* 14:230-235, 1998
4. Kasuya H, Shimizu T, Takakura K: Thrombin activity in CSF after SAH is correlated with the degree of SAH, the persistence of subarachnoid clot and the development of vasospasm. *Acta Neurochir(Wien)* 140: 579-584, 1998
5. Tohyama J, Kasuya H, Higuchi S, Kondo H, Naganuma Y, Uchiyama M: Familial neuronal migration disorder: Subcortical laminar heterotopia in a mother and pachygyria in the son. *Am J Med Genet* 75: 481-484, 1998
6. Kasuya H, Shimizu T: Using hydroxylapatite ceramic buttons covered with periosteum to prevent CSF leakage. *Neurosurgery* 44:422-423, 1999
7. Kasuya H, Shimizu T, Takakura K: Phenytoin as a liquid material for tumor embolization. *Neuroradiology* 41: 320-323, 1999
8. Kasuya H, Shimizu T, Nakaya K, Sasahara A, Takakura K: Angles between A1 and A2 segments of the anterior cerebral artery visualized by three-dimensional CT angiography and association of anterior communicating artery aneurysms. *Neurosurgery* 44: 89-94, 1999
9. Onda H, Kasuya H, Takakura K, Hori T, Imaizumi T, Takeuchi T, Inoue I, Takeda J: Identification of genes differentially expressed in canine vasospastic cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 19:1279-1288, 1999
10. Kasuya H, Onda H, Takeshita M, Hori T, Takakura K: Clinical features of intracranial aneurysms in siblings. *Neurosurgery* 46:1301-1306, 2000

11. Aihara Y, Mashima H, Hisano S, Onda H, Kasuya H, Hori T, Yamada S, Teraoka M, Yokoyama Y, Seino Y, Tajima T, Tomura H, Yamada Y, Inoue I, Kojima I, Takeda J: Identification of a human cDNA and the gene encoding a novel brain-type Na⁺-dependent inorganic phosphate cotransporter. *J Neurochem* 74: 2622-2625, 2000
12. Kawashima A, Kasuya H, Sasahara A, Miyajima M, Izawa M, Hori T: Prevention of cerebral vasospasm by nicardipine prolonged-release implants in dogs. *Neurol Res* 22: 634-641, 2000
13. Hirasawa K, Kasuya H, Hori T: Change of circulating blood volume following craniotomy. *J Neurosurg* 93:581-585, 2000
14. Aihara Y, Kasuya H, Onda H, Hori T, Takeda J: Quantitative analysis of gene expressions related to inflammation in canine spastic artery following subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 32:212-217, 2001
15. 笹原篤、糟谷英俊、川島明次、藍原康雄、井澤正博、堀智勝：ニカルジピン徐放剤の有用性と安全性—イヌ 2 回注入モデルを用いて— *脳外* 28:1071-1075,2000

(2) 口頭発表

1. 糟谷英俊、清水隆、高倉公朋：3-D CTA を用いて測定した A1A2 のなす角度と前交通動脈瘤の発生について。第 27 回脳卒中の外科研究会 札幌 1998 6/24、25 抄録集 p229
2. 糟谷英俊、川島明次、宮島誠：ニカルジピン徐放剤の髄腔内投与による脳血管攣縮予防効果。第 14 回日本 DDS 学会 横浜 1998 7/20、21 抄録集 p281
3. 恩田英明、糟谷英俊、藍原康雄、井澤正博：イヌ脳血管で発現する遺伝子と攣縮血管で発現レベルが変化する遺伝子の同定。第 14 回スパズムシンポジウム 京都 1998 7/25-26、抄録集 p36
4. 川島明次、糟谷英俊、笹原篤、宮島誠、井澤正博、高倉公朋：ニカルジピン徐放剤のイヌ脳血管攣縮モデルにおける有効性。第 14 回スパズムシンポジウム 京都 1998 7/25-26、抄録集 p78
5. 安部禎寿、鈴木豪、山西嘉晴、川島明次、糟谷英俊、笹原篤：脳血管攣縮に対する新規 PAF 拮抗薬 E5880 の効果。イヌ脳血管攣縮モデルでの検討。第 14 回スパズムシンポジウム 京都 1998 7/25-26、抄録集

p77

6. 糟谷英俊、清水隆、高倉公朋：3-D CTA を用いて測定した A1A2 のなす角度と前交通動脈瘤の発生について。第 57 回脳神経外科学会総会 札幌 1998 10/14、15、16 抄録集 p117
7. 恩田英明、糟谷英俊、藍原康雄、井沢正博：脳血管攣縮で発現レベルが変化する遺伝子の同定。第 57 回脳神経外科学会総会 札幌 1998 10/14、15、16 抄録集 p260
8. 川島明次、糟谷英俊、笹原篤、宮島誠、井沢正博、高倉公朋：ニカルジピン徐放剤のイヌ脳血管攣縮モデルにおける有効性。第 57 回脳神経外科学会総会 札幌 1998 10/14、15、16 抄録集 p259
9. 恩田英明、糟谷英俊、堀智勝：全ゲノムを対象としたスクリーニングによる脳動脈瘤感受性遺伝子同定の試み。第 7 回河田町脳神経外科懇話会。東京 1999 3/27
10. 中谷幸太郎、糟谷英俊、清水隆、比嘉隆、堀智勝：くも膜下出血待期手術時管理における静注用 Ca 拮抗薬の adverse effect。第 28 回日本脳卒中の外科学会。横浜 1999 4/19、20 抄録集 pp158
11. 糟谷英俊、川島明次、清水隆、堀智勝：くも膜下出血患者の代謝学的検討からみた栄養管理の重要性。第 28 回日本脳卒中の外科学会。横浜 1999 4/19、20 抄録集 pp104
12. 笹原篤、糟谷英俊、川島明次、藍原康雄、井澤正博、堀智勝：イヌくも膜下出血モデルにおけるニカルジピン徐放剤の有用性と安全性。第 28 回日本脳卒中の外科学会。横浜 1999 4/19、20 抄録集 pp99
13. 糟谷英俊、安部禎寿、川島明次、藍原康雄、笹原篤、鈴木豪、山西嘉晴、堀智勝：イヌくも膜下出血における血管径と脳循環時間の変化。第 15 回スパズムシンポジウム 京都 1999 7/23-24、抄録集 p16
14. 安部禎寿、糟谷英俊、鈴木豪、山西嘉晴、堀智勝：イヌくも膜下出血における脳循環時間の測定と抗 PAF 剤の効果。第 15 回スパズムシンポジウム 京都 1999 7/23-24、抄録集 p17
15. 恩田英明、糟谷英俊、藍原康雄、井澤正博、堀智勝：攣縮血管で発現が亢進する未知遺伝子のクローニング—イヌ脳血管攣縮モデルを用いて—。第 15 回スパズムシンポジウム 京都 1999 7/23-24、抄録集 p43
16. 藍原康雄、糟谷英俊、恩田英明、笹原篤、川島明次、堀智勝：イヌくも膜下出血モデルの攣縮脳血管壁における炎症関連遺伝子 mRNA の発現変化について—quantitative RT-PCR を用いて—。第 15 回スパズムシンポジウム 京都 1999 7/23-24、抄録集 p47
17. 笹原篤、糟谷英俊、川島明次、藍原康雄、井澤正博、堀智勝：イヌくも膜

下出血モデルにおけるニカルジピン徐放剤の有用性と安全性。第15回スパズムシンポジウム 京都 1999 7/23-24、抄録集 p48

18. 糟谷英俊、平孝臣、村垣善浩、堀智勝：顔面神経末梢部の神経血管減圧の工夫。第2回脳神経減圧術研究会 東京 1999 10/26 抄録集 pp15

19. 糟谷英俊、恩田英明、藍原康雄、堀智勝、高倉公朋：脳動脈瘤同胞発症例の臨床上的特徴。第58回日本脳神経外科学会総会 東京 1999 10/27-29 抄録集 pp66

20. 恩田英明、糟谷英俊、藍原康雄、平沢研一、堀智勝、高倉公朋：ゲノム全域での罹患同胞対連鎖解析による脳動脈瘤の感受性遺伝子の同定。第58回日本脳神経外科学会総会 東京 1999 10/27-29 抄録集 pp165

21. 藍原康雄、糟谷英俊、恩田英明、笹原篤、川島明次、堀智勝：イヌクも膜下出血モデルの攣縮脳血管壁における炎症関連遺伝子 mRNA の発現変化について—RT-PCR を用いて—。第58回日本脳神経外科学会総会 東京 1999 10/27-29 抄録集 pp76

22. 笹原篤、糟谷英俊、川島明次、藍原康雄、井澤正博、堀智勝：イヌクも膜下出血モデルにおけるニカルジピン徐放剤の有用性と安全性。第58回日本脳神経外科学会総会 東京 1999 10/27-29 抄録集 pp366

23. 平沢研一、糟谷英俊、堀智勝：開頭術後の循環血液量の変化。第58回日本脳神経外科学会総会 東京 1999 10/27-29 抄録集 pp272

24. 糟谷英俊、清水隆、堀智勝：hemodynamic stress を考慮に入れた前交通動脈瘤 3-D CTA の読影。第23回日本脳神経 CI 学会総会。横浜 2000 1/28,29 抄録集 pp80

25. 糟谷英俊、竹下幹彦、岡田芳和、氏家弘、堀智勝：未破裂無症候性脳動脈瘤の治療指針。第29回日本脳卒中の外科学会。東京 2000 4/25,26 抄録集 pp33

26. 糟谷英俊、平沢研一、竹下幹彦、岡田芳和、堀智勝：くも膜下出血急性期患者管理：DDG アナライザーを用いて。(シンポジウム：スパズム対策としての急性期患者管理) 第16回スパズムシンポジウム 京都 2000 7/21,22 抄録集 pp38

27. 糟谷英俊、恩田英明、竹下幹彦、岡田芳和、堀智勝：新しいスパズム治療：ニカルジピンベレットの臨床効果。(シンポジウム：スパズムに対する最新の治療法) 第16回スパズムシンポジウム 京都 2000 7/21,22 抄録集 pp41

28. 糟谷英俊、恩田英明、岡田芳和、堀智勝：新しいスパズム治療：ニカルジ

ピンペレットの臨床効果。第59回日本脳神経外科学会総会 福岡 2000 10/24,25,26 抄録集 pp122

29. 恩田英明、糟谷英俊、米山啄、高倉公朋、堀智勝：脳動脈瘤の原因遺伝子の同定。第59回日本脳神経外科学会総会 福岡 2000 10/24,25,26 抄録集 pp345

30. Kasuya H, Onda H, hori T: Change in cerebral circulation time and vessel caliber of the basilar artery following subarachnoid hemorrhage and intra-arterial injection of papaverine in a canine double-hemorrhage model. American Association of Neurological Surgeons Annual Meeting. San Francisco April 8-13, 2000 Abstract pp40

31. Onda H, Kasuya H, Hori T: Identification of genes differentially expressed in canine vasospastic cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. American Association of Neurological Surgeons Annual Meeting. San Francisco April 8-13, 2000 Abstract pp15

32. Kasuya H, Onda H, Hori T: Identification of genes differentially expressed in canine vasospastic cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. 7th International Conference on Cerebral Vasospasm. Interlaken/Switzerland June 18-21, 2000 Abstract pp3

33. Kasuya H, Kawashima A, Hori T: Development of nicardipine prolonged-release implants for preventing vasospasm. 7th International Conference on Cerebral Vasospasm. Interlaken/Switzerland June 18-21, 2000 Abstract pp27

34. Kasuya H, Abe Y, Sasahara A, Hori T: Change in cerebral circulation time and vessel caliber of the basilar artery following subarachnoid hemorrhage and intra-arterial injection of papaverine in a canine double-hemorrhage model. 7th International Conference on Cerebral Vasospasm. Interlaken/Switzerland June 18-21, 2000 Abstract pp40

35. Onda H, Kasuya H, Yoneyama T, Takakura K, Hori T: A genome-wide search for human intracranial aneurysms genes reveals major susceptibility loci on chromosome 5, 7 and 14. The fourth annual meeting of the AANS/CNS Section on cerebrovascular Surgery and the American Society of Interventional and Therapeutic Neuroradiology. The Big Island Hawaii Feb 9-12, 2001 Abstract pp134

36. Kasuya H, Onda H, Kawashima A, Okada Y, Hori T: Efficacy of nicardipine prolonged-release implants to prevent clinical vasospasm. The fourth annual meeting of the AANS/CNS Section on cerebrovascular Surgery and the American Society of Interventional and Therapeutic Neuroradiology. The Big Island Hawaii Feb 9-12, 2001 Abstract pp92

(3) 出版物

1. 川島明次、糟谷英俊、塩川和彦、宮島誠、井沢正博、高倉公朋：脳血管攣縮に対するニカルジピン徐放剤の有用性。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 13 1998,中外医学社 pp222-225
2. 恩田英明、糟谷英俊、井沢正博、高倉公朋：イヌ脳血管攣縮モデルにおける遺伝子発現の変化。mRNA differential display 法を用いて。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 13 1998,中外医学社 pp257-260
3. 糟谷英俊、清水隆、比嘉隆、中谷幸太郎：スパズムによる脳梗塞のCT所見。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 13 1998,中外医学社 pp320-324
4. Onda H, Kasuya H, Izawa M, Takakura K: Identification of the genes associated with cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage using mRNA differential display. Nicholas Dorsch (ed): Cerebral Vasospasm VI Proceedings of the 6th International Conference on Cerebral Vasospasm. Sydney 1997 Oslington Consulting Pty Ltd, Leichhardt, Australia 1999 pp84-85
5. 阿部禎寿、鈴木豪、山西嘉晴、川島明次、糟谷英俊、笹原篤：脳血管攣縮に対する新規 PAF 拮抗薬 E5880 の効果。イヌ脳血管攣縮モデルでの検討。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 14 1999,中外医学社 pp318-321
6. 恩田英明、糟谷英俊、藍原康雄、井沢正博：イヌ脳血管で発現する遺伝子と攣縮血管で発現レベルが変化する遺伝子の同定。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 14 1999, 中外医学社 pp120-125
7. 川島明次、糟谷英俊、笹原篤、宮島誠、井沢正博、高倉公朋：ニカルジピン徐放剤のイヌ脳血管攣縮モデルにおける有効性。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 14 1999, 中外医学社 pp322-325
8. 糟谷英俊、安部禎寿、川島明次、藍原康雄、笹原篤、鈴木豪、山西嘉晴、堀智勝：イヌくも膜下出血における血管径と脳循環時間の変化。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 15 1999, 中外医学社 pp128-131

9. 安部禎寿、糟谷英俊、鈴木豪、山西嘉晴、堀智勝：イヌくも膜下出血における脳循環時間の測定と抗 PAF 剤の効果。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 15 2000, 中外医学社 pp 132—137
10. 恩田英明、糟谷英俊、藍原康雄、井澤正博、堀智勝：攣縮血管で発現が亢進する未知遺伝子のクローニング—イヌ脳血管攣縮モデルを用いて—。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 15 2000, 中外医学社 pp 214—217
11. 藍原康雄、糟谷英俊、恩田英明、笹原篤、川島明次、堀智勝：イヌくも膜下出血モデルの攣縮脳血管壁における炎症関連遺伝子 mRNA の発現変化について— quantitative RT-PCR を用いて—。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 15 2000, 中外医学社 pp 230—233
12. 笹原篤、糟谷英俊、川島明次、藍原康雄、井澤正博、堀智勝：イヌくも膜下出血モデルにおけるニカルジピン徐放剤の有用性と安全性。浅野孝雄、大田富男、その他：脳血管攣縮 vol 15 2000, 中外医学社 pp 234—237