

## 脳血管内皮機能障害における TNF $\alpha$ の関与とその分子機序の解明

八木田佳樹

川崎医科大学 脳卒中医学教室

### 【研究の背景】

脳血管障害は現在我が国の死因第4位であり、寝たきりに相当する要介護5の原因疾患第1位である。急性期治療として rt-PA 静注療法や機械的血栓回収による再灌流療法が有効である。しかし時間的制約などから適応症例は限られており、また治療の有効性を得られるのは約 4割程度にとどまる。治療成績に影響する因子の一つが側副血行路の発達である。動脈硬化などにより頭蓋内血管が狭窄閉塞し、慢性的に低灌流状態に陥った脳では脳軟髄膜血管を介した側副血行路が発達することによって脳梗塞発症を回避でき、またたとえ発症したとしても軽症ですみ、再灌流療法の有効性向上も期待できる。側副血行路の発達には shear stress が誘導する一過性の TNF $\alpha$  産生亢進による単球のリクルートが関与している。一方で高血圧、糖尿病などの動脈硬化危険因子が存在すると、慢性的に過剰な TNF $\alpha$  が作用することにより脳血管内皮機能障害を引き起こし、脳側副血行路の発達障害が引き起こされる。我々のこれまでの検討から、動脈硬化の危険因子である糖尿病のモデルマウスでは脳実質の TNF $\alpha$  基礎値が高く、慢性低灌流負荷による一過性の TNF $\alpha$  発現亢進がみられない。このような TNF $\alpha$  シグナルの異常が側副血行路発達障害の機序に関与している可能性が考えられる。

### 【目的】

本研究では、糖尿病モデルマウスの脳において TNF $\alpha$  関連分子の発現動態を明らかにし、慢性的な高 TNF $\alpha$  状態を是正することで、側副血行発達を回復させることができか検討する。それにより脳側副血行路発達を促進させる新たな治療法開発につなげることが目的である。

### 【方 法】

糖尿病モデルマウスである db/db マウスまたは非糖尿病対照として db/+マウスをイソフルレン(0.5-4.0%)持続吸入麻酔下で片側の総頸動脈を結紮、閉塞させることで脳慢性低灌流モデルを作成する。左心室を介して墨汁加ラテックスビーズを大動脈に注入することで、脳軟髄膜血管を可視化する。脳を取り出し、固定後に脳軟髄膜血管吻合部の径を顕微鏡下に測定する。TNF $\alpha$  およびその受容体、その他マクロファージ関連分子の慢性低灌流負荷における動態を real time PCR を用いて経時的に評価する。db/db マウスに対して、可溶性 TNF $\alpha$  受容体(5mg/kgBW/day)を 2 日おきに 3 回全身投与する。投与終了後、頸動脈結紮し慢性低灌流を誘導する。可溶性 TNF $\alpha$  受容体投与による側副血行路発達を評価する。またその後に中大脳動脈を結紮した場合の梗塞サイズと神経機能を評価する。

### 【結 果】

非糖尿病対照マウスに比し、db/db マウスでは慢性低灌流負荷に対する脳軟髄膜血管を介する側副血行路の発達が不良であった。db/db マウスでは慢性低灌流を負荷しない状態においても、TNF $\alpha$  およびその受容体である TNFR1、TNFR2 の発現が亢進していた。またその他のマクロファージ関連分子として iNOS、Arginase-1 の発現も亢進していることが明らかとなった。慢性低灌流負荷後、対照マウスの脳では TNF $\alpha$ 、TNFR1、TNFR2 の発現が 7 日目をピークとして一過性に亢進していた。一方、db/db マウスではこの一過性の発現亢進が認められなかった。db/db マウスに対して可溶性 TNF $\alpha$  受容体

(5mg/kgBW/day) 投与を行うことで、慢性低灌流負荷に対する側副血行路発達は有意に改善していた。その後に中大脳動脈を結紮して脳虚血を誘導するモデルでは、可溶性 TNF $\alpha$  受容体非投与群に比し、投与群では梗塞サイズが小さく、側副血行路発達を介して血流が供給される前大脳動脈領域との境界領域が梗塞に陥るのを免れたものと考えられた。

### 【考察】

本結果より、動脈硬化危険因子である糖尿病は脳局所において慢性的な高 TNF $\alpha$  状態を引き起こし、これによる脳血管機能障害のために脳軟齶膜血管を介した側副血行路発達障害を引き起こしているものと推測された。動脈硬化に至る血管機能障害を引き起こす分子である TNF $\alpha$  が、脳血管の良好な側副血行路発達を促す分子でもあることをどのように理解するかこれまで不明であったが、一過性か持続性かという時間経過が異なるという点が一つのカギであると考えられる。今回糖尿病による持続的な高 TNF $\alpha$  状態が、脳血管機能障害を引き起こし、低灌流負荷に対する応答性を失わせることが明らかになった。本結果は側副血行路発達障害の機序を解明につながる重要なものであると考える。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

脳血管の側副血行路発達の程度は脳梗塞重症度と強く関連する。糖尿病により側副血行路発達障害が引き起こされるとを明らかにし、その機序につながる知見を得たことは臨床的に大きな意義がある。また今回介入に用いた可溶性 TNF $\alpha$  受容体は抗 TNF $\alpha$  薬として既に臨床で使用されており、安全性などの知見が豊富である。脳血管障害への応用を考える際に非常に重要な点である。今後可溶性 TNF $\alpha$  受容体の投与を受けている症例の血管機能の解析などを進めていけば臨床へ大きく貢献できるものと考える。