**三重医学若手研究者賞（医学研究部門）**

氏名（年齢） **川北 文博**（39歳）

所属・職名 三重大学医学部附属病院 脳神経外科・医員

○ 受賞の感想と今後の抱負

この度は若手研究者賞という栄誉ある賞を頂き、大変光栄に存じます。本学脳神経外科学教授の鈴木秀謙先生をはじめ研究にあたって御指導頂いた多くの先生方に深く御礼申し上げます。今回の受賞を励みに今後もより一層研究に精進したいと考えておりますので、引き続き御指導御鞭撻のほど宜しくお願い致します。

○ 受賞テーマ

「くも膜下出血後早期脳損傷と非痙攣性てんかんとの関連に関する研究」

○ 研究の概要と将来展望

最近、non-convulsive seizures (NCSz)やnon-convulsive status epilepticus (NCSE)がくも膜下出血(SAH)の予後不良因子として知られるようになってきた。基礎研究では早期脳損傷と呼ばれるSAH特有の脳障害が予後不良因子として重要視されている。我々は最近、マトリセルラー蛋白の１つであるテネイシンC (TNC)がSAH後の脳において高発現し、神経細胞アポトーシスの原因になることを報告した。神経細胞アポトーシスはSAH後の早期脳損傷においても、てんかん原性獲得過程においても重要と考えられている。そこで我々はSAH後にTNCが誘導され、早期脳損傷が生じ、その結果、てんかん原性獲得に至りNCSzやNCSEが生じるという仮説を立てた。本研究ではTNC遺伝子改変マウスを用いて、早期脳損傷の中でも神経細胞アポトーシスに焦点を絞り、TNCがSAH後の神経細胞アポトーシスとそれに続くNCSzやNCSE発生に関与するか否か、関与する場合、その病態を明らかにするのが目的である。具体的には以下のように施行する。

1) TNC発現抑制がSAH後のNCSzやNCSE、神経細胞アポトーシスに及ぼす影響の検討

TNCノックアウトマウスと野生型マウス（メス：20-25g）をそれぞれsham群とSAH群の2群づつの計4群にランダムにけ、Stroke Therapy Academic Industry Roundtable (STAIR)が提唱する動物実験指針に準じ、評価項目は全て盲検的に検討する。TNCノックアウトマウスはTNC研究の権威である今中恭子・三重大学大学院医学系研究科修復再生病理学准教授より提供を受ける(Nishioka, et al. Am J Physiol 298:H1072-1078, 2010)。SAHモデルはSAHの急性期モデルとして確立している血管内穿通法により作成し、経頭蓋電極により持続的に脳波をモニターし、TNCノックアウトによりSAH後てんかんの重症度や頻度がどのような影響を受けるか検討する。さらにSAH後24時間後および１週間後に致死率、体重変化率、SAHの重症度、神経症状、血液脳関門(BBB)障害、アポトーシスの程度を２重盲検的に評価し、TNC発現抑制によりどのような影響を受けるか評価する。また、野生型マウスに抗てんかん薬を投与し、SAH後てんかんを抑制することで、TNC誘導および神経細胞のアポトーシス発生が抑制されるか検討する。既に予備研究でTNCノックアウトにより神経細胞障害が抑制されるというデータを得ている。また、経頭蓋電極を設置し、SAH後の脳波をモニターすると、SAH後マウスではSAHを誘導した直後よりてんかん性放電がほぼ全例で見られることも確認しており、本研究を実施する準備は万全である。

2) TNCが神経細胞アポトーシス、NCSzやNCSEを引き起こす機序の解明

TNCが神経細胞アポトーシス、NCSzやNCSEを引き起こす分子病態や細胞内情報伝達機構を明らかにするため、関与することが予想される各分子、例えば、Toll様受容体4、インテグリン、上皮成長因子受容体、代表的なmitogen-activated protein kinaseであるextracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2、c-Jun N-terminal kinase (JNK)およびp38、cleaved caspase-3、サイトカインなどの発現変化をWestern blot法にて評価する。また、各分子の発現細胞を同定するため、神経細胞のマーカーであるNeuN、astrocyteのマーカーであるglial fibrillary acidic protein、内皮細胞のマーカーであるCD34との多重免疫染色を行う。TNCの発現部位では、TNCの各構造部位であるassembly domain、epidermal growth factor-like repeats、fibronectin type Ⅲ repeats、fibrinogen globeに特異的なモノクローナル抗体を用いて、TNCのどの分画が発現しているか更に詳細な検討を行う。また、TNCが神経細胞アポトーシス、NCSzやNCSEを誘導する分子機構を証明するため、野生型マウスSAHモデルに、発現増加が予想されるToll様受容体4拮抗薬、ERK1/2・JNK・p38阻害薬などを投与し、神経細胞のアポトーシスが抑制できるか、さらにはNCSzやNCSEの発生を抑制できるか検討する。

* 関連分野における本研究の特筆すべき点

SAH後の早期脳損傷の病態を解明し新たな治療法を開発することは、SAH患者の予後を改善する上で極めて重要であることは近年、繰り返し強調されている(Suzuki. Transl Stroke Res 6:1-3, 2015)。しかし、早期脳損傷に関する研究は始まったばかりで、その病態は未だ殆ど明らかになっていない。最近では、SAH患者にNCSzやNCSEが稀ならず生じ、予後不良の原因になることが明らかになったが(Kondziella, et al. Neurocrit Care 22:450-461, 2015)、これらのSAH後てんかんと早期脳損傷の関係はこれまで全く検討されてこなかった。

最近、我々は多面的な作用をもつTNCがSAH後に誘導され、早期脳損傷、特に神経細胞のアポトーシス発生に重要な役割を果たす可能性を報告してきた(Suzuki, et al. Neural Regen Res 11:230-231, 2016; Liu, et al. Mol Neurobiol 55:8346-8354, 2018)。しかし、SAH後てんかんとTNCの関係は我々が知る限り検討されたことは無い。TNCはラットのてんかん原性神経細胞障害部位にも発現することから（Mercado-Gómez, et al. Epilepsy Res 108:1694-1704, 2014）、TNCがSAH後のてんかん原性獲得あるいはてんかん誘発性神経細胞死に関与している可能性は十分にある。そこで応募者は、SAH後にTNCが誘導され、早期脳損傷、特に神経細胞アポトーシスの原因となり、その結果、てんかん原性獲得に至りNCSzやNCSEが生じると考えた。また、NCSzやNCSEが原因となり、TNCがさらに誘導されることで早期脳損傷が増悪する可能性を考えた。本研究ではこれらの仮説を証明することを目的とし、仮説通りの結果が得られた場合は、さらにTNCが神経細胞アポトーシス、NCSzやNCSEを引き起こすシグナル経路を解明する。本研究ではSAH後の早期脳損傷とてんかんを結びつける画期的な研究成果が得られる可能性があり、今後のSAHの予後改善を目指した新たな治療法の開発への発展が期待できる。また難治性てんかんの病態解明にも大いに貢献できると考える。

* 本研究の将来期待される点

従来、SAH後に発生する病態の中で最も予後に影響を与える因子とされた脳血管攣縮に対するランダム化二重盲検臨床試験では、治験薬であるクラゾセンタン（エンドセリン受容体拮抗薬）が脳血管攣縮を有意に抑制したにもかかわらず、SAH患者の予後は改善しなかった(Macdonald, et al. Stroke 39:3015-3021, 2008)。その後、同様の結果が繰り返し報告され、最近ではSAH患者の予後を改善するには、脳血管攣縮だけではなく、神経細胞アポトーシスなどからなる早期脳損傷と呼ばれるSAH特有の脳障害を抑制することが重要と考えられるようになってきた(Suzuki, et al. Transl Stroke Res 6: 1-3, 2015)。

TNC はマトリセルラー蛋白と総称される細胞外マトリックス蛋白の1つであるが、細胞支持組織としての役割はなく、正常状態ではほとんど発現していない。しかし、病的状態では機械的ストレスや酸化ストレス、炎症などにより誘導され、受容体やサイトカイン、他の細胞外マトリックス蛋白などと反応し、細胞間や、細胞と細胞外マトリックス間の様々な機能を調整することから近年、注目され、様々な病態への関与が報告されてきた。しかし、TNCがてんかん原性獲得において果たす役割を直接、検討した研究はない。TNCを介する新しいてんかん原性獲得やてんかん誘発性細胞死のシグナル経路を解明できれば、薬剤抵抗性の側頭葉てんかんなど、他原因のてんかん研究にも応用できる可能性があり、てんかん原性獲得やてんかん誘発性細胞死を未然に防ぐ新しい治療法の開発へと発展していく可能性がある。

○ 本研究に関連する代表的な原書学術論文（1編）

1. Kawakita F, Kanamaru H, Asada R, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Suzuki H. Inhibition of AMPA (α-Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazole Propionate) Receptor Reduces Acute Blood-Brain Barrier Disruption After Subarachnoid Hemorrhage in Mice. Transl Stroke Res. 2021 Aug 3. doi: 10.1007/s12975-021-00934-0.

○ 略歴

2006年　　　　　　　鈴鹿回生病院で研修

2010年　　　　　　　済生会松阪総合病院脳神経外科医員　勤務

2011年　　　　　　　三重大学医学部附属病院脳神経外科医員　勤務

2012年　　　　　　　三重大学大学院医学系研究科　生命医科学専攻　入学

2016年　　　　　　　三重大学大学院医学系研究科　生命医科学専攻　卒業

2016年　　　　　　　済生会松阪総合病院脳神経外科医長　勤務

2018年　　　　　　　三重大学医学部附属病院脳神経外科医員　勤務

○ 専門分野

脳神経外科学

○ 医学博士、専門医資格など

三重大学大学院医学系研究科　生命医科学専攻　医学博士

日本脳神経外科学会専門医、日本脳卒中学会専門医