

平成26年度（第19回）
弘前大学医学部学術賞
奨励賞受賞論文

MATSUDA N, OHKUMA H, NARAOKA M, MUNAKATA A, SHIMAMURA N, ASANO K. Role of oxidized LDL and lectin-like oxidized LDL receptor-1 in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2014; 121: 621-30.

くも膜下出血後脳血管攣縮における，酸化 LDL とレクチン様酸化 LDL 受容体の役割

弘前大学医学部附属病院 脳神経外科
松 田 尚 也

【諸言】

くも膜下出血（SAH）の特徴的合併症の一つに脳血管攣縮がある。SAH 発症4-14日に起こる遅発的かつ持続的な脳血管収縮であり，程度が強ければ脳梗塞に至り予後に影響を与える重大な合併症である。脳血管攣縮発生の機序は未だ完全には解明されていないが，くも膜下腔の血腫から発生する free radical が関与していると考えられている。これまで free radical scavenger を用いた多くの研究が行われてきたが，十分な予後改善効果は得られておらず，血腫以外の free radical 産生経路の存在する可能性が考えられる。近年，酸化 LDL と，血管内皮細胞や血管平滑筋細胞に存在するその受容体 Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) の結合により産生される Reactive oxygen species (ROS) が，動脈硬化進展の発端であることが示されている。また，それらの結合により endothelial NO synthase (eNOS) の down-regulation が起こることも報告されている。以上から SAH 後に動脈壁において酸化 LDL，LOX-1 による ROS 生成の悪循環が生じているならば，脳血管攣縮の発生に関与する可能性があると想定した。一方で，リングに含まれる procyanidin などの polyphenol が free radical scavenger として働くことが知られており，加えて，procyanidin は LOX-1 inhibitor としての作用を有することも報告されていることから，攣縮抑制効果が期待されると考えた。

【目的】

本研究は，ウサギくも膜下出血モデルにおいて，SAH による脳動脈壁内での酸化 LDL と LOX-1 発現の変化，そして apple polyphenol 投与による脳血管攣縮抑制効果につき検討することを目的とした。

【方法】

Rabbit 40羽をランダムに，SAH 群，Sham operation 群，SAH-apple polyphenol 低用量投与（low-dose polyphenol）群，SAH-apple polyphenol 高用量投与（high-dose polyphenol）群の4群に分けた。SAH 群，low-dose polyphenol 群，high-dose polyphenol 群は自己血を day 0, day 2 の2回大槽に注入し，SAH を作成した。Sham 群は生理食塩水を day 0, day 2 の2回大槽に注入した。Low-dose, high-dose polyphenol 群には apple polyphenol をそれぞれ10 mg/kg/day, 50 mg/kg/day, day 0～3 の4日間，経鼻胃管を用

い投与した。Day4に安楽死させ、各群5羽は還流固定した後、脳底動脈、大脳を摘出し、脳底動脈血管断面積計測と、酸化LDL、LOX-1、eNOS特異的抗体を用いた免疫染色による脳底動脈血管壁の組織学的検討、そしてterminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL)法を用いて側頭葉脳実質内のapoptosisにつき検討した。各群残り5羽はreverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)にて脳底動脈におけるLOX-1、eNOS発現量を測定し比較した。

【結果】

SAH群では、sham群に比し血管壁の酸化LDL、LOX-1の発現が有意に増加した。また、eNOSの発現は有意に減少し、血管断面積も有意に減少した。polyphenol群では、SAH群に比し、酸化LDLとLOX-1発現は抑制され、eNOS発現は増加し、それに伴い血管断面積狭小化も抑制された。High-dose polyphenol群ではそれらの変化に統計学的有意差を認めしたが、low-dose polyphenol群では有意差を認めなかった。また、TUNEL法では、全群の脳皮質においてapoptosisは認められなかった。

【考察】

結果より酸化LDL、LOX-1と脳血管攣縮について以下の関連が考えられる。血腫からのfree radicalにより、血管壁内でLDLが酸化修飾を受ける。発生した酸化LDLが平滑筋細胞、内皮細胞に存在するLOX-1へ結合し、ROSが生成される。ROSにより平滑筋収縮及び内皮障害が生じ、血管攣縮が起こる。生成されたROSはまた、LDLの酸化修飾にも関わり悪循環を生じる。Procyanidinを投与することで、ROSを直接scavengeすることに加え、LOX-1の活性化・up-regulationを抑制し、新たなROS生成を抑制する。ROS生成の悪循環を断ち切ることで、脳血管攣縮を抑制した可能性が考えられた。

【結語】

本研究は、SAHによる脳血管壁における酸化LDL、LOX-1発現増加と、脳血管攣縮への関与を示唆した初めての報告である。Apple polyphenolに含まれるprocyanidinが、用量依存的に酸化LDL、LOX-1、ROS生成の悪循環を抑制すると考えられ、脳血管攣縮予防効果を有することが示唆された。