

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域： メカノバイオロジー機構の解明による革新的医療機器及び医療技術の創出
2. 研究開発課題名： 血管のメカノバイオロジー：血流センシングと脳動脈瘤形成の分子機構
3. 研究開発代表者： 山本 希美子（国立大学法人 東京大学 大学院医学系研究科）
4. 研究開発の成果

本研究では、血管細胞が血流や血圧に起因する力学的刺激である流れずり応力（shear stress）や伸展張力（stretch）をセンシングし、その情報を細胞内部に伝達することで細胞応答を起こすメカノトランスダクション機構を解明する。さらに、メカノセンシングを介して起こる細胞機能の変化が血流因子の関与する血管病である脳動脈瘤の発生と進展に果たす役割を明らかにするとともに、臨床例を対象に計算流体力学解析を行うことで脳動脈瘤の破裂予測やコイル塞栓術後の再発予測に使える診断ツールの開発を目指す。本年度は以下の内容の研究開発を行った。

（1）内皮細胞の血流センシングとメカノトランスダクション機構の解明

肺動脈内皮細胞（HPAECs）に shear stress と stretch をそれぞれ作用させたときの細胞膜の物理的性質の変化を脂質の相状態（lipid order）と流動性の面から解析した。細胞形質膜の脂質相は一様ではなく、リン脂質のアルキル鎖が規則正しく配向する秩序液体相（ L_o ）と、アルキル鎖の運動が活発で一定の配向を示さない無秩序液体相（ L_d ）が混在している。こうした異なる脂質膜の lipid order を環境感受性蛍光プローブ Laurdan と 2 光子レーザ顕微鏡を用いてリアルタイムイメージングした。流れ負荷装置を用いて HPAECs に shear stress を作用させると、即座に細胞膜の相状態が L_o から L_d に変化した。この変化はコレステロールやスフィンゴ脂質を多く含むカベオラと呼ばれる脂質ミクロドメインで顕著に観察された。一方、一軸伸展装置及び、低浸透圧膨張により細胞膜に stretch の刺激を与えると、形質膜の lipid order が L_d から L_o へ変化するといった、shear stress とは逆の反応が観察された。静水圧に対しては lipid order の変化は観察されなかった。さらに、細胞膜の流動性の変化を光褪色後蛍光回復法で解析した所、shear stress を負荷すると、膜の流動性が増加した一方、stretch 刺激では、膜の流動性が減少した。以上の結果は細胞膜自体が shear stress と stretch を異なる力学的刺激として区別することができることを示唆している。

（2）内皮細胞の力学応答が脳動脈瘤の病因・病態に果たす役割の解析

血流に起因する力学的刺激がどのように血管細胞に作用し、脳動脈瘤の病因・病態を制御するかを検討するために、脳動脈瘤ラットモデルを用いて、血管壁に作用する血行力学因子の情報をライブイメージングで取得する事を目指した。ラットの片側総頸動脈を閉塞すると同時に、高塩分食負荷と腎動脈結紮を行い、全身性に高血圧を誘導することにより、閉塞側と逆側の嗅動脈-前大脳動脈分岐部に脳動脈瘤を誘発させた。麻酔下で脳動脈瘤病変部位を露出させ、2 光子レーザ顕微鏡を用いて、蛍光ラベルした内皮細胞とマクロファージをライブイメージングする手法を確立した。

（3）メカノバイオロジーの観点から脳動脈瘤の診断・治療に役立つ基盤技術の開発

破裂する可能性の高い脳動脈瘤を選別し、治療方針の決定に生かすことを目的として、脳動脈瘤頸部や体部に発生し、瘤の増大や破裂に関与する力学的パラメータを決定する為に、脳動脈瘤患者個別の 3 次元脳血管画像と血流情報を利用して、テーラーメイドの計算流体力学（CFD）解析を行った。中大脳動脈瘤と比べて破裂率が約 2 倍高い前交通動脈瘤の血行力学因子の分布を比較した所、前交通動脈瘤内の shear stress が有意に低かった。また、乱流の程度示す指標（GON, OSI, NtransWSS）が高値である群に、瘤の顕著な増大が認められた。以上の結果から、脳動脈瘤患者の脳血管の CFD 解析することで、瘤の増大や破裂の危険性のある症例の診断に応用できると考えられる。