HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Roles of nicotine in the development of intracranial aneurysm rupture

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2019-11-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 神尾, 佳宣 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003662

博士（医学）　神尾　佳宣
論文題目
Roles of nicotine in the development of intracranial aneurysm rupture
（脳動脈瘤破裂におけるニコチンの役割）

論文の内容の要旨
［はじめに］
喫煙は脳動脈瘤破裂の独立した危険因子と考えられている。タバコには 7000 以上の化学物質が含まれているが、中でもニコチンは主要な生物学的活性を持つ成分である。ニコチンの生物学的標的器官において、ニコチン性アセチルコリン受容体は 5 量体で形成され、16 種類の subunit から異なる組合せで構成されている。その中で α7subunit ニコチン性アセチルコリン受容体（α7nAChR）は血管内皮細胞や血管平滑筋細胞に多く発現しており、ニコチンとの相互作用により局所的な炎症や血管新生を促進すると考えられる。本研究はマウス脳動脈瘤モデルを用いてニコチンおよび α7nAChR 活性化が脳動脈瘤破裂を促進することを検証し、さらに細胞特異的 α7nAChR ノックアウトマウスを用いて、脳動脈瘤破裂におけるニコチンの効果に関与する細胞を特定することで脳動脈瘤破裂メカニズムを解明することを目的とした。
［材料ならびに方法］
本研究は University of California, San Francisco, the Institutional Animal Care and Use Committee に承認されたプロトコール（承認番号 AN126403）の下で行われた。9 週齢雄 C57BL/6J マウスおよび α7nAChR ノックアウトマウス（α7nAChR KO）を使用した。また単球・マクロファージ系で特異的に発現する Lysozyme M promoter（LysM）、血管内皮細胞特異的に発現する Tie2 promoter（Tie2）および血管平滑筋細胞特異的に発現する SM22 promoter（SM22）の各下流に Cre リコンビナーゼ遺伝子をノックインしたマウスにそれぞれ α7nAChRflox/flox マウスを交配し、細胞特異的 α7nAChR コンディショナルノックアウトマウス(α7nAChRcKO)を作成して実験に使用した。脳動脈瘤は片側腎摘出 1 週間後、deoxycorticosterone acetate と食塩負荷による高血圧誘導および脳底槽へのエラスターゼ投与による組み合わせで誘発を行なった。
1. ニコチン（5 mg/kg/day, sc）および α7nAChR アゴニスト（5 mg/kg/day, ip）による α7nAChR 活性化により脳動脈瘤の形成、破裂が増加するか検証を行なった。2. ニコチン投与下に α7nAChR アンタゴニスト（5 mg/kg/day, ip）を投与することで脳動脈瘤の破裂抑制効果を検討した。3. α7nAChR KO マウスおよび α7nAChRcKO に対してニコチンを投与することで脳動脈瘤の破裂抑制効果を検証した。4. ニコチンの炎症性変化や血管新生の評価を行うためニチコン投与群およびコントロール群の脳動脈瘤を採取して real-time polymerase chain reaction で炎症性サイトカインおよび各種成長因子の発現量を検討した。
［結果］
1. ニコチン投与により脳動脈瘤の破裂が増加した（ニコチン群 vs vehicle 群:

89% vs 46%）。α7nAChR アゴニストも有意に脳動脈瘤の破裂を増加させた（α7nAChR アゴニスト群 vs vehicle 群: 92% vs 40%）。2. ニコチンに α7nAChR アンタゴニストを追加することにより、上記のニコチンによる破裂率の増加はリバースされた（ニコチン群　vs ニコチン+α7nAChR アンタゴニスト群: 100% vs 42%）。3. α7nAChR KO においてニコチン投与により脳動脈瘤破裂の増悪は認めなかった（α7nAChR KO+vehicle 群 vs α7nAChR KO+ニコチン群: 27% vs 36%）。血管平滑筋細胞の α7nAChR 欠損マウスでは、ニコチン投与下でコントロールマウスと比べて脳動脈瘤破裂を有意に減少させた(コントロールマウス+ニコチン群 vs α7nAChRcKO+ニコチン群: 91% vs 22%) が、単球・マクロファージ系や血管内皮細胞の α7nAChR 欠損マウスでは差を認めなかった。4. ニコチン投与により脳動脈瘤組織中の炎症性サイトカイン（IL-1β, IL-6, TNF-α, MMP-9）および血管内皮増殖因子（VEGF）、血小板由来成長因子（PDGF-B）の増加を認めた（ニコチン群 vs vehicle 群; VEGF: 1.0±0.3 vs 1.6±0.2; PDGF-B: 1.0±0.3 vs 1.6±0.3）。また α7nAChR の阻害下では、ニコチン投与によるこれらのサイトカインおよび成長因子の増加は抑制された（ニコチン群 vs ニコチン+α7nAChR アンタゴニスト群; VEGF: 1.6±0.2 versus 0.8±0.3; PDGF-B: 1.6±0.3 versus 0.9±0.1）。

［考察］

多くの疫学的研究において喫煙と脳動脈瘤破裂に強い相関があることが報告されているがその病態メカニズムは十分にわかってない。本研究においてニコチンは血管平滑筋細胞に発現する α7nAChR を活性化させることで脳動脈瘤破裂を増加させたが、マクロファージや顆粒球などの炎症細胞や血管内皮細胞に発現する α7nAChR の活性化は脳動脈瘤破裂に影響を与えなかった。過去の研究において、ニコチンは血管平滑筋細胞の α7nAChR の刺激により VEGF および PDGF-B を放出して血管平滑筋細胞の遊走や増殖を促進すること、VEGF および PDGF-B は炎症細胞を血管壁への遊走を促進することが報告されている。そして炎症細胞から放出される炎症性サイトカインが VEGF、PDGF-B の放出を促し負の循環を引き起こしていると考えられる。脳動脈瘤のヒトおよび動物研究において炎症と血管新生は脳動脈瘤の成長および破裂に重要な役割を担っていることが指摘されている。本研究の結果よりタバコの主成分であるニコチンが α7nAChR に作用して炎症性サイトカインおよび成長因子の発現を促進し、脳動脈瘤破裂を引き起こす可能性が示唆された。

［結論］

ニコチンは血管平滑筋細胞に発現する α7nAChR を介して脳動脈瘤破裂増加を示した。α7nAChR は脳動脈瘤破裂予防に対する治療ターゲットになりうると考える。