

血管内皮を標的とした革新的脳卒中治療法の探索

国立循環器病研究センター 脳神経内科

医長 服部 頼都

(共同研究者)

国立循環器病研究センター 脳神経内科 部長 猪原 匡史

国立循環器病研究センター 脳神経内科 医長 鷺田 和夫

はじめに

頸動脈狭窄／閉塞症は、脳梗塞の発症のリスクとなるとともに、脳梗塞を発症せずとも認知症の発現リスクでもある。認知機能障害の発現リスクについて、無症候性頸動脈中等度以上狭窄症患者は認知機能が低下した患者が多く^(1,2)、中等度以上の頸動脈狭窄症患者(25例)において、Stroop検査(前頭葉機能の評価)の結果が有意に悪化したという報告⁽³⁾があり、無症候性頸動脈狭窄／閉塞症はVCIの代表的な原因疾患の1つである。われわれは、頸動脈狭窄症モデルマウスにおいて、「長寿遺伝子」*SIRT1*がeNOSを脱アセチル化(活性型)し、脳血流増加を介して認知機能が改善し、頸動脈閉塞症モデルマウスにおいて、脳血流量の低下を抑制して海馬の虚血性遅発性神経細胞死を抑制した^(4,5)ことを報告しており、頸動脈狭窄／閉塞症における*SIRT1*の有効性の非臨床POCが得られている。

以上より、脳血管内皮を標的として脳血流量を増加させる新たな治療法として、NAD⁺/*SIRT1*経路を活性させる作用を有するレスベラトロール(RES)に着目した。レスベラトロールの薬理作用は、ホスホジエステラーゼ4に結合し、活性を阻害してcAMPの分解を抑制する。cAMPの上昇にてCamKK β -AMPK経路を活性化し、その結果、細胞内NAD⁺を増加させ、*SIRT1*活性を上昇させる⁽⁶⁾。このため、RESを投与する特定臨床研究を行うために、至適サンプルサイズの設定が重要となる。サンプルサイズを算出するために、無症候性頸動脈中等度以上狭窄症または閉塞症患者でRES摂取している患者、摂取していない患者で、後ろ向きに認知機能、脳血流量の変化を探索的に検討する必要がある。そして至適サンプルサイズを組み込んだ次相の特定臨床研究のプロトコルを作成する。

方 法

2020年7月より2021年8月までに国立循環器病研究センターを受診した、RES 30mg/日を摂取、または、非摂取の無症候性の中等度以上頸動脈狭窄症または閉塞症患者を対象とした。選択基準は、(1) 90歳未満、(2) 狭窄部のpeak systolic velocityが130cm/s以上(径狭窄率>50%に相当)の無症候性頸動脈中等度以上狭窄症または閉塞症、(3) 認知機能検

査 (ADAS-Cog J 15 と MoCA-J) を6か月から1年のインターバルをおいて測定している、(4)¹⁵OガスPETも同様に、6か月から1年のインターバルをおいて測定している患者である。主要アウトカムは、ADAS-Cog J 15 の変化量 (前後差) の比較であり、副次アウトカムは、(1) MoCA-Jの変化量 (前後差)、(2) ¹⁵OガスPETでの脳血流量の変化量の比較 (前後差) である。国立循環器病研究センター研究倫理審査委員会での承認を受けて本研究を開始した。

結 果

1. 患者背景

34人のレスベラトロール摂取患者 (RES群) と26人のレスベラトロール非摂取患者 (Non-RES群) が、選択基準を満たした。平均年齢は、Non-RES群で75.8歳、RES群で77.8歳であり、男性の割合は、Non-RES群で76.9%、RES群で73.5%。ベースラインのADAS-Cog J 15 は、Non-RES群で15.7±6.4点、RES群で17.0±8.5点であった。MoCA-Jは、Non-RES群で23.4±3.7点、RES群で23.6±3.7点であった。患者背景で2群で有意差は認めなかった。

2. 認知機能の変化

ADAS-Cog J 15 で測定した認知機能の変化について、遅延再生、再認、記憶ドメイン (遅延再生、見当識、再認、教示再起)、合計点で、RES摂取と認知機能改善に関連を認めた (表1)。一方、MoCA-Jでは2群間で有意差は認めなかった (表2)。

表1

	Non-RES (n=26)	RES 30mg/day (n=34)	p value	95% CI	
遅延再生	0.54 ±1.865	-0.94 ±2.088	0.007	0.415	2.551
再認	0.46 ±2.064	-0.76 ±2.284	0.041	0.050	2.396
記憶ドメイン	0.92 ±3.463	-1.62 ±2.861	0.004	0.800	4.269
合計	1.13 ±4.774	-2.48 ±5.043	0.008	0.974	6.245

表2

	Non-RES (n=26)	RES 30mg/day (n=34)	p value	95% CI	
遅延再生	-0.15 ±1.736	0.41 ±1.672	0.207	-1.452	0.321
合計	-0.08 ±2.799	0.24 ±3.660	0.719	-1.981	1.357

3. 脳血流量の変化

¹⁵OガスPETで脳血流量を測定した。当センターの日常診療で用いられているROIを元に変化量を解析した。表3のように、脳血流量の前後差は、右視床、右前大脳動脈領域、右中大脳動脈領域、右後大脳動脈領域でRES摂取と脳血流量増加との有意な関連を示した。このことから、RESは、脳血流量を増加させ、認知機能を改善することを示唆する結果を得た。

表3

	Non-RES (n=26)	RES 30mg/day (n=34)	p value	95% CI	
右視床	0.147	0.926	0.048	-0.1549	-0.0008
右前大脳動脈	-0.538	0.605	0.010	-0.1999	-0.2868
右中大脳動脈前部	-0.0316	0.551	0.028	-0.1636	-0.0098
右中大脳動脈後部	-0.0319	0.564	0.035	-0.1701	-0.0065
右後大脳動脈	-0.0549	0.471	0.038	-0.1982	-0.0591

4. 特定臨床研究を行うためのサンプルサイズ測定と準備状況

本研究は、RES投与群とプラセボ群を比較する二重盲検ランダム化比較試験の予備実験として行い、本研究の主要アウトカムのADAS-Cog J 15 の合計点の変化量を元に、次相の臨床試験のサンプルサイズ算出を行った。主要評価項目の解析の際にはベースライン時のADAS-Cog J 15 の合計点を共変量とした共分散分析により群間の比較を行う。ただし、限定的なデータから推定された相関係数の点推定値は参考にしにくいことから、保守的に無相関を仮定する。この下で、両側有意水準を5%、見込みの対立仮説上での検出力を80%とした場合に必要な症例数は片群64例となる。以上の根拠と10%程度の脱落等を想定し、次相の介入試験における目標登録症例数を142例とする。

この目標症例数を元に、国立循環器病研究センターデータサイエンス部の支援の下、介入試験のプロトコル作成を行うことができ、臨床研究倫理審査委員会へ2022年3月中に申請する。

考 察

本研究で、1) RESと脳血流増加、2) RESと認知機能（特に記憶）の改善、に関連を認めることができた。RESは、ホスホジエステラーゼを阻害してcAMPを分解抑制し、NAD⁺/SIRT1経路を活性化させて、eNOSを活性型に変換し脳血管拡張を介して脳血流を改善し、最終的に認知機能改善に寄与したことが考えられた。このように、RESは安全に使用できる脳血管を標的としたVCIの予防・治療法となりうる最右翼である。

頸動脈狭窄/閉塞症は血管性認知障害の代表的な原因疾患となるが、血管性認知障害患者の脳MRIにおいて、大脳白質病変（WMH：white matter hyperintensity）を広範に認め

ることが多い。われわれの研究で、遊離脂肪酸分画によっては、広範な大脳白質病変と関連することが明らかとなった。さらに、SIRT1/AMPK回路の活性化は、遊離脂肪酸の合成を抑制させる可能性があり^(7, 8)、最終的に大脳白質病変の縮小化が期待される。このため、SIRT1の効果として、eNOSによる脳血流増加のみならず、遊離脂肪酸の合成抑制が認知症治療法の新規標的となることが期待される。現在、本研究の助成にて遊離脂肪酸分画を測定中である。

われわれは、本研究結果とこれまでの知見より、VCI患者において、1年間のRES 150mg /day投与による認知機能改善効果を前向きに検討するために、次相の特定臨床研究のサンプルサイズを算出することに成功し、これによってプロトコル作成もほぼ完了した。最終的に、医薬品を目指すうえで、次のステージの特定臨床研究終了後、検証的な多施設共同治験を行い、治験成功後は薬事承認を目指す。

文 献

1. Balestrini S, Perozzi C, Altamura C, Vernieri F, Luzzi S, Bartolini M, et al. Severe carotid stenosis and impaired cerebral hemodynamics can influence cognitive deterioration. *Neurology*. 2013;80(23):2145–50.
2. Lal BK, Dux MC, Sikdar S, Goldstein C, Khan AA, Yokemick J, et al. Asymptomatic carotid stenosis is associated with cognitive impairment. In: *Journal of Vascular Surgery*. J Vasc Surg. 2017:083–92.
3. Nickel A, Kessner S, Niebuhr A, Schröder J, Malherbe C, Fischer F, et al. Cortical thickness and cognitive performance in asymptomatic unilateral carotid artery stenosis. *BMC Cardiovasc Disord*. 2019;19(1).
4. Hattori Y, Okamoto Y, Maki T, Yamamoto Y, Oishi N, Yamahara K, et al. Silent information regulator 2 homolog 1 counters cerebral hypoperfusion injury by deacetylating endothelial nitric oxide synthase. *Stroke*. 2014;45(11):3403–11.
5. Hattori Y, Okamoto Y, Nagatsuka K, Takahashi R, Kalaria RN, Kinoshita M, et al. SIRT1 attenuates severe ischemic damage by preserving cerebral blood flow. *Neuroreport*. 2015;26(3):113–7.
6. Park SJ, Ahmad F, Philp A, Baar K, Williams T, Luo H, et al. Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP phosphodiesterases. *Cell*. 2012;148(3):421–33.
7. Gu L, Cai N, Lyu Y, Yao L, Wang F, Xu H, et al. γ -Mangostin Ameliorates Free Fatty Acid-Induced Lipid Accumulation via the SIRT1/LKB1/AMPK Pathway in HepG2 and L02 Cells. *J Agric Food Chem*. 2019;67(50):13929–38.
8. Liou C-J, Lee Y-K, Ting N-C, Chen Y-L, Shen S-C, Wu S-J, et al. Protective Effects of Licochalcone A Ameliorates Obesity and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Via Promotion of the Sirt-1/AMPK Pathway in Mice Fed a High-Fat Diet. *Cells*. 2019;8(5):447.