

厚生科学研究研究費補助金

脳科学研究事業

中枢神経損傷後の機能回復機構の解明、
治療法の開発に関する研究

平成 12 年度 総括研究報告書

主任研究者 杉本 壽

平成 13 (2001) 年 3 月

目次

I. 総括研究報告書	
中枢神経損傷後の機能回復機構の解明、治療法の開発に関する研究 杉本 壽	1
II. 分担研究報告書	
1. 長期植物状態からの回復時期の解明 塩崎 忠彦	20
2. 重症頭部外傷患者における脳血流量と高次脳機能の関係 速形 俊昭	25
3. 脳損傷患者の機能回復過程における近赤外光トポグラフィーを用いた研究 喜多村 祐里	34
4. 頭部外傷後の高次神経機能の変化について 西川 隆	39
5. 外傷後遅発性進行性脳萎縮 (Delayed Neuronal Loss) の機序の解明 塩崎 忠彦	43
6. び慢性脳損傷モデルにおける行動異常と脳由来神経栄養因子 (BDNF) 投与による改善について 吉峰 俊樹	46
7. 虚血性神経細胞死とその制御機構に関する研究 玉谷 実智夫	59
8. 中枢神経損傷における Microglia の役割に関する研究 種子田 護	63
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	66
IV. 研究成果の刊行物・別冊	67

総括研究報告書 (脳科学研究事業)
「中枢神経損傷後の機能回復機構の解明、治療法の開発」
主任研究者 杉本 壽 大阪大学大学院医学系研究科
生体機能調節医学講座教授

研究要旨:本研究は、受傷から社会復帰までを見通した総合的な視点に立って重症頭部外傷の治療法を開発するものである。『重症頭部外傷患者の長期追跡による脳機能回復機構の解明と機能回復を積極的に促進する慢性期治療法の開発』をメインテーマにして、以下の研究を行なった。

臨床研究では、1. 長期植物状態からの回復時期の解明:植物状態を呈している重症頭部外傷患者の長期予後追跡調査と、キセノンCTを用いた脳血流量の評価。2. 長期植物状態からの回復予知法の開発:近赤外光トポグラフィーを用いた中枢神経系機能と血流動態の解析。3. 意識回復例での高次脳神経機能の解析。4. 外傷後遅発性進行性脳萎縮(delayed neuronal loss)の機序の解明。5. 急性慢性脳腫脹の発生機序の解明と治療法開発。

基礎研究では、1. 動物ならびに培養細胞を用いた脳損傷モデルにおける神経損傷と修復機序の解明:①慢性脳損傷モデルにおける脳由来神経栄養因子(BDNF)の投与効果。②小胞体ストレス蛋白150kDa oxygen regulated protein(ORP150)の機能解析。③二次的脳損傷におけるmicrogliaの役割。2. 急性慢性脳腫脹動物モデルの開発。

1. 21例で追跡調査を行い、14例(67%)で意識が平均4.1±2.8ヶ月で回復した。しかし、Moderate Disability(MD)以上のレベルに改善したのは2例(14%)であり、意識回復後もADL(日常生活動作)は障害されていた。認知能力のうち、摂食に関しては14例中6例(43%)が自分で食事できる程度にまで回復していたが、排泄に関しては2例(14%)、整容動作も2例(14%)しか自分で出来るレベルには回復していなかった。この結果から、摂食に関する能力は意識回復とともに比較的早期に回復するが、排泄及び整容動作に関する能力は回復が困難であることが判明した。意識回復と年齢との関係では、若年者で意識回復の頻度が高い傾向を認めた。キセノンCT法を用いて受傷から6週間後まで脳血流量を各週ごとに6例で測定した。その結果、重症頭部外傷患者では、頭部外傷の重症度が高いほど、脳血流量が低下しており、しかも低下した脳血流量がさらに経日的に減少する症例が存在することが判明した。また高次脳機能障害を来した症例では、脳血流量が低下している傾向を示し、脳血流量の低下が高次脳機能障害に関係することが示唆された。
2. 疼痛刺激、正中神経刺激、光刺激、等の多様な刺激入力に対する脳血液量の変化を光トポグラフィーを用いて計測する方法を確立し、実際の測定を開始した。その結果、機能障害と脳循環の自動調節機能の破綻との関係が示唆され、脳機能障害の予後診断法として、近赤外光トポグラフィーは有用であると考えられた。
3. 意識回復例の高次脳神経機能を検討した結果、現段階では明瞭な傾向を抽出するには至っていない。今回の症例群では左半球損傷が多く、機能面では言語性の記憶障害が多い傾向であった。今後症例を蓄積し頭部外傷後の脳機能障害の傾向や、追跡調査による回復過程の探索の必要性が示唆された。
4. 遅発性進行性脳萎縮の機序には、中等度脳低温療法によって頭蓋内の温度を34℃に冷却したことなく、中等度脳低温療法を併用しなければコントロールできない程の高い頭蓋内圧がその発生に強く関与していると考えられた。

1. 瀰慢性脳損傷モデルにおける行動異常と脳由来神経栄養因子 (BDNF) 投与の効果に関する研究では、外部より脳室内に BDNF を持続投与することにより動物の行動性が活発となることが定量的に確認された。今後の治療法として臨床応用に向けて、投与時期、投与量、安全性など検討を加える必要がある。
2. 小胞体に局在する ORP150 が虚血耐性にとっての key factor であることがわかった。今後の研究方向として、小胞体とミトコンドリアのクロストーク、特に小胞体ストレスによる細胞死にミトコンドリアの機能変化が如何に関わっているかを明らかにすることが重要と思われる。
3. 外傷性脳損傷後の脳内微小血管の破綻に伴う脳浮腫の増強、遅発性脳出血などの二次的脳損傷に protease である uPA や microglia 由来の MMP-9 が関与することが明らかとなった。
4. 急性瀰慢性脳腫脹動物モデルの開発では、ラット頭部に器質的損傷を加えない程度の衝撃を複数回加えてモデル作成を試みている。衝撃の強さや衝撃を与える間隔(日数)を変えてラットの脳切片を観察している段階である。

分担研究者

嶋津 岳士 大阪大学大学院医学系研究科生体機能調節医学助教授

田中 裕 大阪大学大学院医学系研究科生体機能調節医学助教授

鎌方 安行 大阪大学大学院医学系研究科生体機能調節医学助手

塩崎 忠彦 大阪大学大学院医学系研究科生体機能調節医学助手

速形 俊昭 大阪大学大学院医学系研究科生体機能調節医学助手

種子田 護 近畿大学医学部脳神経外科教授

吉峰 俊樹 大阪大学大学院医学系研究科神経機能制御外科教授

西川 隆 大阪大学大学院医学系研究科神経機能医学講師

玉谷 実智夫 大阪大学大学院医学系研究科機能形態学助教授

喜多村 祐里 大阪大学大学院医学系研究科情報生理学助手

A. 研究目的

本研究の目的は、重症頭部外傷患者

の単なる救命や結果としての回復ではなく、積極的に脳機能の回復を促進せしめ、より完全な社会復帰を実現することにある。

重症頭部外傷は社会や家庭の重要な担い手である青壮年層に最も多く、たとえ救命できても重篤な脳機能障害が遺ると、患者本人・家族に深刻な問題を提起する。長期にわたる医療と介護は医療・社会経済を圧迫すると同時に家庭崩壊をも招く。近年救急医療や蘇生術の進歩により、従来は急性期に脳死に陥った症例が多数救命されるようになったが、その分だけ植物状態を含む重度脳機能障害患者が多数生み出されている。将来を予測できない状態での植物状態患者の医療・介護は、医療従事者や家族にとってきわめて大きな負担を強いる。意識回復の予知法、回復機構の解明とそれに基づく回復の促進治療法の開発が家族や医療経済、社会に及ぼす効果は計り知れない。

また重症頭部外傷後に意識が完全

に回復し社会復帰した後に、高次脳機能障害による様々な問題行動のため家庭生活や復職が困難な症例も多く見られる。運動や感覚機能に異常がなく一見正常に見えるだけに周囲の理解も少なく悪循環に陥る。その発生機構や推移については明らかではない。精神医学的な治療と周囲の理解が必要と考えられ、その成果に大きな期待が寄せられている。

過去3年間の研究で(平成9年～11年、脳科学研究事業「中枢神経系外傷に関する研究」)中等度脳低温療法を含め従来の治療法が全く無効な致死性頭蓋内圧亢進の約1/3を占める急性慢性脳腫脹は、器質的障害ではなく一過性の脳血管反応性の異常による機能障害であることを明らかにした。この場合、数時間続く頭蓋内圧亢進を制御さえすれば後遺障害もなく回復する可能性が高いことを我々はすでに確認している。すなわち、この病態の初期数時間内の治療法の開発は死からの完全復活を意味し、その価値は計り知れない。また、同研究で我々は、従来は致死性であった最重症頭部外傷患者を中等度脳低温療法によって救命し、長期追跡することによって機能が回復したにもかかわらず脳萎縮が年余にわたり緩徐に進行する病態を見だし、「Delayed neuronal loss」と命名した。この病態の機序を解明することの影響は、単に頭部外傷の領域にとどまらない可能性がある。

本研究は、受傷から社会復帰までを見通した総合的な視点に立って重症

頭部外傷の治療法を開発するものである。『重症頭部外傷患者の長期追跡による脳機能回復機構の解明と機能回復を積極的に促進する慢性期治療法の開発』をメインテーマに、『一過性の機能的脳血管障害であり完全な脳機能の回復が期待できる急性慢性脳腫脹の発生機序の解明と治療法の開発』をサブテーマにして、以下の研究を行なった。

臨床研究

1. 長期植物状態からの回復時期の解明:受傷後1ヶ月の時点で植物状態を呈している重症頭部外傷患者の長期予後追跡調査を prospective にを行い、長期植物状態からの自然回復過程を明らかにする。さらに、重症頭部外傷患者の脳血流量をキセノンCTを用いて急性期から慢性期にかけて経日的に測定し、頭部外傷の重症度との関係を中心に解析した。

2. 長期植物状態からの回復予知法、回復機構の解明と回復促進法の開発:わが国で開発された近赤外光トポグラフィを用いて、損傷を受けた中枢神経系機能と血流動態の関係を明らかにし、意識障害を含めた脳機能予後の診断的評価法を確立するための基礎データを収集した。

3. 意識回復例での高次脳機能の障害発生機構、回復機構解明と回復促進法の開発:頭部外傷後の高次脳機能の評価を行い、その回復過程、障害の傾向について調査した。

4. 外傷後遅発性進行性脳萎縮(delayed neuronal loss)の機序の解明:中等度脳低温療法が本病態の発生

に参与しているかを検討した。

5. 急性・慢性脳腫脹の発生機序解明と治療法開発

基礎研究

6. 動物ならびに培養細胞を用いた脳損傷モデルにおける神経損傷と修復機序の解明:①慢性脳損傷モデルにおける脳由来神経栄養因子 (BDNF) 投与による効果についての研究。②低酸素刺激による神経細胞死のメカニズムに関し、小胞体に局在するストレス蛋白 150kDa Oxygen regulated protein (ORP150)に着目し、その機能解析を行った。③脳血管の破綻に伴う二次的脳損傷における microglia の役割について解明し、脳損傷の予防とその治療法の開発を行った。

7. 急性・慢性脳腫脹動物モデルの開発

B. 研究方法

臨床研究

1. 長期植物状態からの回復時期の解明

受傷後1ヶ月の時点で植物状態を呈している重症頭部外傷患者の長期予後追跡調査を prospective に行い、長期植物状態からの自然回復過程を明らかにした。対象は、1996年10月以降に大阪大学医学部附属病院救命救急センターで急性期治療を受けた重症頭部外傷患者のうち、受傷後1ヶ月の時点で植物状態(もしくは植物状態以下の昏睡状態)を呈していた21症例(平均年齢42±18、男/女=16/5)である。18例は来院時 Glasgow

Coma Scale (GCS)が8点以下の重症頭部外傷患者で、残りの3例は来院時GCSが9点以上であったが急激に意識レベルが低下してきた『Talk and Deteriorate』患者である。

植物状態を呈している患者の意識レベルを受傷1年以内は毎月、受傷1年以降は2ヶ月に1度、Glasgow Outcome Scale score (GOS)及びDisability Rating Scale score (DRS)を用いて評価した。患者が入院している場合は、病院を直接訪問するか主治医に電話で確認した。自宅で介護している場合は、移動が容易であれば再来院してもらい、困難な場合は介護している中心人物に電話で確認した。

さらに平成12年8月から平成13年2月の間に大阪大学医学部附属病院救命救急センターに入院した重症頭部外傷患者の内6例に、キセノンCT法を用いて受傷から6週間後まで脳血流量を各週ごとに測定した。6例の内訳は男性5例、女性1例で、来院時のGlasgow Coma Scale (以下GCS)は3から8点であった。全例、頭蓋内圧モニター下にサイアミールまたはプロポホルによる鎮静を行い、脳ヘルニアをきたした1例と頭蓋内圧が高値であった1例に対しては34度の中等度脳低温療法を施行した。

2. 長期植物状態からの回復予知法の研究

脳血管障害および頭部外傷による意識障害を伴う中枢神経系損傷患者を対象とし、近赤外光トポグラフィーを用いた脳機能の可視化を行った。近赤外光トポグラフィーの測定には、日

立メデイコ社製光トポ脳機能計測装置 ETG-100 を用いた。第1段階として、意識障害患者に適切な賦活課題の検討を行うため、左右手首の他動的屈伸運動、疼痛刺激、フラッシュによる光刺激に加え、音楽療法、味覚療法などによる賦活を行った。

3. 意識回復例での高次脳機能の障害発生機構、回復機構解明と回復促進法の開発

平成12年度に大阪大学医学部救命救急センターに収容された頭部外傷患者のうち、神経心理学的検査が可能であった9例を対象とした。それぞれの患者に、一般的な神経心理検査、認知機能の評価としてMMSE、言語機能の評価としてSLTA、記憶力の評価としてWMS-R、前頭葉機能の評価としてRCPM、WCST、go-no go test、行為の評価として信号動作、パントマイム、手指命名を行った。

4. 外傷後遅発性進行性脳萎縮の機序の解明

1998年2月から2000年1月の2年間にわたって行われた多施設研究(平成10・11年度脳科学研究事業)にエントリーした91例(34℃群45例と37℃群46例)を対象として、受傷後1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、可能なら18ヶ月と24ヶ月後に追跡調査し、患者の回復度合いの確認と頭部CT検査を施行した。

5. 急性瀰慢性脳腫脹の発生機序の解明と治療法の開発

従来の治療法では致死的である急性瀰慢性脳腫脹患者6例に対して、外表から用手的に内頸動脈を圧迫して

頭蓋内圧の制御効果について検討した。

基礎研究

6. 動物ならびに培養細胞を用いた脳損傷モデルにおける神経損傷と修復機序の解明

① 瀰慢性脳損傷モデルにおける行動異常と脳由来神経栄養因子(BDNF)投与の効果に関する研究: 瀰慢性脳損傷モデルを作成した。同モデルを用い、直径1mの円形フィールド中央にラットを放置した後の90秒間について自発行動、探索行動をモノクロCDカメラで記録、解析した。さらにBDNFの脳室内投与の効果について検討した。

② 小胞体ストレスタンパク ORP150と虚血性神経細胞死との関係についての研究: 低酸素時に特異的に誘導される小胞体シヤペロンORP150を脳特異的に強制発現させたトランスジェニックマウスを作製し、野生型マウスと、脳梗塞での神経細胞障害を比較した。

③ 脳血管の破綻に伴う二次的脳損傷におけるmicrogliaの役割について: マウス鋭的脳損傷モデルを用い、損傷脳のprotease mRNAの発現および活性を測定した。また、PAI-1遺伝子欠損マウスを作成し、脳損傷の程度を評価した。さらにmicroglia細胞の各種刺激に対するprotease, iNOS, COX-2 mRNAの発現を検討した。

7. 急性瀰慢性脳腫脹動物モデルの開発

ラットの頭部にコーチカルインパ

クターによる衝撃を加え、衝撃の強さや衝撃を与える間隔(日数)を変えて急性瀰漫性脳腫脹モデルの開発を行った。

C. 研究結果

1. 長期植物状態からの回復時期の解明

平成13年3月現在、21例全症例で6ヶ月以上(最長4年5ヶ月)の追跡調査がなされており、意識回復の経過は①Group I:受傷から3ヶ月以内に植物状態から脱却して急激な意識レベル改善を認める症例(8例)、②Group II:受傷5~12ヶ月後にかけて緩徐に意識レベルが改善して植物状態から脱却する症例(6例)、③Group III:植物状態がずっと遷延する症例(7例)の3通りに分かれることが判明した。観察期間内に死亡した症例は3例(14%)で、それぞれ受傷14ヶ月目、16ヶ月目、37ヶ月目に肺炎で死亡した。21例中14例(67%)で意識が回復し、意識回復までに要した期間は平均 4.1 ± 2.8 ヶ月であった。意識が回復した14例の中で、GOSでModerate Disability(MD)以上のレベルに改善したのは2例(14%)であり、意識回復後もADL(日常生活動作)は障害されていることが判明した。もちろん、社会復帰できている症例は皆無であった。また、認知能力のうち、摂食に関しては14例中6例(43%)が自分ひとりで何とか食事できる程度にまで回復していたが、排泄に関しては14例中2例(14%)、整容動作に関しても14例中2例(14%)しか自分ひと

りでできるレベルには回復していなかった。この結果から、摂食に関する能力は意識回復と共に比較的早期に回復するが、排泄及び整容動作に関する能力は回復が困難であることも判明した。

意識回復と年齢との関係を調べると、50歳未満では12例中10例(83%)で意識が回復したのに対して、50歳以上では9例中4例(44%)しか意識が回復せず、若年者で意識回復の頻度が高い傾向を認めた($P=0.081$)。症例数が少ないため、来院時意識レベル、CT上の脳損傷形態、急性期頭蓋内圧の推移と意識回復との間には明らかな関係を見出すことができなかった。

重症頭部外傷患者の脳血流量が急性期から慢性期にかけてどの様に変化し、重症度といかなる関係があるかを、キセノンCT法を用いて受傷から6週間後まで脳血流量を各週ごとに6例で測定した。その結果、①来院時GCSが3点で脳ヘルニアを来した症例と、頭蓋内圧が40mmHgに達し意識障害が遷延した症例で脳血流量は経日的に減少した。他の症例の脳血流量は低値から増加傾向を示すもの、低値のまま経過するもの、ほぼ正常血流値のまま経過するものと一定した傾向は示さなかった。②来院時のGCSが低い症例、意識障害が遷延する症例で脳血流量が低値を示す傾向を認めた。③高次脳機能障害を認めた4例で脳血流量は低下しており、高次脳機能障害を認めなかった1症例は脳血流量の低下を認めなかった。

以上より重症頭部外傷患者では、頭

部外傷の重症度が高いほど、脳血流量が低下しており、しかも低下した脳血流量がさらに経日的に減少する症例が存在することが判明した。また高次脳機能障害を来した症例では、脳血流量が低下している傾向を示し、脳血流量の低下が高次脳機能障害に関係することが示唆された。

2. 長期植物状態からの回復予知法の研究

意識障害患者における脳機能賦活課題として、他動的運動および疼痛刺激が適切であることが明らかとなった。また、健常人による予備実験で閉眼状態における光フラッシュによる視覚野刺激を行った結果、賦活による信号値は小さく、患者を対象にした測定ではさらに同定が困難であることが分かった。意識障害患者における他動的運動および疼痛刺激を用いた光トポグラフィー計測の結果、意識回復の予後に一致した局所脳血流反応の改善を認めた。

全身の循環動態との関連においては、脳機能障害の程度に応じた脳血流の自動調節機能が局所的に損なわれている可能性が示唆された。

脳死患者における光トポグラフィー測定の結果、皮膚血流の増大にともなって近赤外光計測による信号値の増大を認めたが、脳血流動態の変化による信号値変化に比べ、微小変化であることが示された。

3. 意識回復例での高次脳機能の障害発生機構、回復機構解明と回復促進法の開発

2001年3月の時点で得られているのは9症例のデータなので、代表的な3症例について高次脳機能の評価と画像所見との関連を述べる。

症例1:35歳 男性 右利き 会社員、交通事故による脳挫傷・くも膜下出血。主訴：記銘障害、性格変化（易奴性、暴力性）。

交通事故にて受傷。来院時意識不明であったが、その後意識は回復し、6ヶ月後には社会復帰した。しかし記銘障害と性格変化は、残存したままであった。このため、受傷より約2年8ヶ月後に検査を行った。脳画像では、CTで脳梁・中脳に脳挫傷巣を認めた。SPECTでは大脳半球の軽度血流低下（左により目立つ）を呈した。神経心理学的評価は、(1) MMSE 25/30（3語遅延再生 0/3）、(2) WMS-R 言語性・視覚性ともに近時記憶の軽度の障害、(3) 手指構成の左右伝達障害（+）、(4) 左右拇指探し試験（+）であった。

(3)、(4)は脳梁病変による半球離断症状であり、(1)、(2)の近時記憶障害は脳梁病変のみによるか否かは不明であった。性格変化についても現在のところ原因病変は不明である。

症例2:19歳 男性 右利き フリーアルバイター、交通事故による左硬膜下血腫・脳浮腫。

主訴：注意の障害、計算障害

交通事故にて受傷。来院時の意識レベルはGCS3-5-6であった。その後意識レベルは回復したが、計算能力の低下などを指摘された。脳画像では、CTで左硬膜下血腫、周囲脳実質に浮腫を伴う変化を認めた。SPECTでは右前頭

葉・後頭葉の著明な血流低下、左前頭葉・側頭葉の血流低下を認めた。神経心理学的所見(約1ヶ月時評価)では、

(1) Digit span 順唱4桁 逆唱2桁、

(2) 構音障害、(3) Brady kinesia を認めた。(1), (2), (3)とも両側前頭葉を含む機能低下によるものと考えられる。

症例3: 25歳 男性 右利き 職歴不明、交通事故による脳挫傷。

主訴: 感情失禁、漢字書字障害

交通事故にて受傷。脳画像では、CTで左前頭葉・側頭葉、とりわけ側頭極から側頭葉底面に強い低吸収域。右にも同部位に軽度の所見。前頭葉底面にも病変を認めた。神経心理学的所見(約9ヶ月時評価)では、(1) MMSE 28/30 (時間見当識 4/5、3語遅延再生 2/3)

(2) WMS-R 言語性・視覚性ともに軽度障害、(3) SLTA 呼称・語の列挙の軽度障害を呈した。(3)は前頭葉底面を中心とする病変による語想起障害。(1), (2)は両側側頭葉の機能低下が内側面にも及んでいるか、前頭葉底面の障害の関与が疑われた。

以上3例の所見を述べたが、他の6例の結果を含めても現段階では明瞭な傾向を抽出するには至っていない。今回の症例群では左半球損傷が多く、機能面では言語性の記憶障害が多い傾向であった。今後、更なる症例の蓄積により頭部外傷後の脳機能障害の傾向を探るとともに、各症例の追跡調査によって脳機能障害の回復過程についても検討していく必要性が示唆された。

4. 外傷後遅発性進行性脳萎縮の機序の解明

1998年から2年間にわたって行われた多施設研究(平成10・11年度脳科学研究事業)の症例(34℃群 45例と37℃群 46例)を現在も追跡調査中である。これらの症例は、従来の治療法で頭蓋内圧を25mmHg未満にコントロールできる『頭蓋内圧の低い症例』である。全症例とも受傷後1年以上経過しているが、どちらの群にも delayed neuronal loss は認めていない。

5. 急性瀰慢性脳腫脹の発生機序の解明と治療法の開発

従来の治療法では致死的である急性瀰慢性脳腫脹患者(6例)に対して、外表から用手的に内頸動脈を圧迫して内頸動脈血流量を減少させることにより、短時間ではあるが頭蓋内圧を制御できることを確認した。

6. 動物ならびに培養細胞を用いた脳損傷モデルにおける神経損傷と修復機序の解明

① 瀰慢性脳損傷モデルにおける行動異常と脳由来神経栄養因子(BDNF)投与の効果に関する研究:

動物モデルはすべて受傷直後に一時的に無呼吸を呈し、直後の死亡率は19.5%(15/77)であった。痙攣発作は受傷直後生存動物の62.8%にみられ、本モデルは中等度から高度の瀰慢性脳損傷モデルといえる。

Open fieldにおける自発行動の解析の結果、瀰慢性脳損傷モデルでは、行動開始が遅延するとともに、行動量が著しく減少し緩慢な動きを示した。行動パターンも正常とは異なり、

field の中央部を横切る動きが認められた。受傷2日後では path (移動距離) は 42.9% (損傷前の測定値を 100%とする)、1週後 53.5%、2週後 55.2%、4週後 56.1%、8週後 66.4% と移動距離は約半減したままであった。行動開始の遅延や左右への転回運動の減少も同様に認めた。

損傷群に対して受傷直後よりミニポンプを埋め込み、BDNF20 μ g/day を投与した。その結果、受傷2日後では行動性が非損傷群に対して軽度低下していた (path 79.2%) が、1週、2週の時点では非投与群に比して著しい活動性の増加を示し (1週後 path 140%、2週後 122%)、非外傷群と比べてもむしろ行動量が増加していた。その行動は field の周囲を回る動きが中心であり、正常動物に認められるパターンであった。BDNF 投与の終了した4週後、8週後は行動量は減少しているが、非投与群に対しては有意に増加し、sham 群と同等のレベルであった。

② 小胞体ストレスタンパク ORP150 と虚血性神経細胞死との関係についての研究: 低酸素時に特異的に誘導される小胞体シャペロン ORP150 を脳特異的に強制発現させたトランスジェニックマウスを作製し、野生型マウスと、脳梗塞での神経細胞障害を比較した。

(I) 脳梗塞患者における ORP150 の発現

脳梗塞で亡くなった患者の剖検脳における ORP150 の発現をみた。発症後早期 (6時間以内) においては虚血中心の神経細胞に、慢性期 (発症3日以

降) においては虚血周辺部のアストロサイトに強い発現を認めた。

(II) 培養細胞における ORP150 の発現機序の解析

ORP150 は培養神経細胞において低酸素環境下において2-4時間と早期に一時的な比較的弱い誘導が認められた。一方アストロサイトにおいては6-12時間後より持続的な強い発現誘導が認められた。

(III) ORP150 トランスジェニックマウスにおける梗塞サイズの解析

ORP150 を神経細胞特異的に過剰発現するマウスを PDGF-promoter を利用し、作成した。このマウスは確かに神経細胞において ORP150 の発現が上昇しており、大脳皮質や海馬では野生型に比べ、約3倍の発現を認めた。これらのマウスを用いて、中大脳動脈閉塞後の梗塞サイズを TTC 染色により比較した。トランスジェニックマウスにおいて有意な梗塞サイズの減少が認められた。また、この機構に CASPASE-3 活性化の抑制が関与することがわかった。さらに神経学的所見においても有意に改善が認められた。

(IV) ORP150 が神経保護作用を示すメカニズムの解析

トランスジェニックマウスと野生型マウスからの初代神経培養細胞を低酸素環境下におき、遠心分離により分画した小胞体分画、細胞質分画、および培養上清中の BDNF の量を ELISA 法で定量した。小胞体低酸素環境下では BDNF をはじめとする神経保護因子は小胞体に蓄積し細胞外へ分泌さ

れない。ところが ORP150 を過剰発現した神経細胞では、細胞外への神経保護因子の分泌の低下は認められなかった。よって、ORP150 の神経保護機構に神経保護因子の小胞体から細胞外への輸送促進が関与することがわかった。

③ 脳血管の破綻に伴う二次的脳損傷における microglia の役割について：マウス鋭的脳損傷モデルを用い、損傷脳の protease mRNA の発現および活性を測定した。また、PAI-1 遺伝子欠損マウスを作成し、脳損傷の程度を評価した。さらに microglia 細胞の各種刺激に対する protease, iNOS, COX-2 mRNA の発現を検討した。

その結果、脳損傷後の微小血管破綻に基づく脳浮腫の発生（二次的脳損傷）には脳内に恒常的に存在するウロキナーゼタイププラスミノゲンアクチベーター（uPA）が大きな役割を果たしていることが明らかとなった。通常 uPA は uPA receptor に結合し protease 活性を示すが、脳損傷時は receptor 非結合性の遊離 uPA が脳内微小血管破綻・二次的脳損傷に関与している可能性が明らかとなった。Chemokine/cytokine 刺激により活性化された microglia は iNOS mRNA, COX-2 mRNA を発現しまた血管壁基底膜を構成する collagen Type IV を破壊する MMP-9 mRNA を発現する一方、同様に collagen Type IV を破壊する MMP-2 の発現は生じないことが明らかとなった。またこれまで脳損傷に関与が疑われている組織型プラスミノ-

ゲンアクチベーター（tPA）については活性化 microglia は tPA mRNA の発現増加は認めなかった。

7. 急性瀰慢性脳腫脹動物モデルの開発

ラット頭部に器質的損傷を加えない程度の衝撃を複数回加えてモデル作成を試みている。衝撃の強さや衝撃を与える間隔（日数）を変えてラットの脳切片を観察している段階である。

D. 考察

我々は今回の研究で、受傷後1ヶ月の時点で植物状態（もしくはそれ以下の昏睡状態）を呈している重症頭部外傷患者の自然回復過程を長期間追跡調査した。Sazbon と Groswasser (J Neurosurg, 1990) が受傷後1ヶ月間昏睡状態に陥っている頭部外傷患者の臨床経過（1974～1983年）を retrospective に調査した結果では、134例中72例(54%)が意識を回復し、42例(31%)が1年以内に死亡したと報告されているが、今回の研究結果では、21例中14例(67%)で意識が回復し、1年以内の死亡は零であった。我々の研究の方が死亡率が低い（21例中3例で14%）のは、20年前と比べて抗生物質使用、呼吸循環管理、輸液、経腸栄養、褥創管理、等の全ての面で医学が格段の進歩を遂げているためと考えられる。しかし、医学が格段の進歩を遂げたにもかかわらず意識を回復する患者の割合が20年前と同程度なのは、逆に医学の進歩によって20年前は救命不可能であった超重症頭部外傷患者の急性期を乗り切るこ

とが出来るようになったためと考えられる。また、Sazbon と Groswasser (J Neurosurg, 1990)らは、意識の回復した 72 症例の中で最終的には 8 例 (11%) が普通の仕事に就くことができ、35 例 (49%) が擁護作業場での仕事に就くことができたと報告しているが、我々の症例では 1 例も仕事には復帰できていない。このことから考えても、我々の症例の方が脳損傷の程度が重篤であると考えられる。

以上より、植物状態を呈している患者の過去の医療レベルでの自然回復過程と現在の医療レベルでの自然回復過程は全く違うと考えられる。したがって、意識回復を促す新しい治療法の効果を正しく評価するためには、まず現在の医療レベルでの自然回復過程を正確に把握しておく必要がある。そのためには今回の pilot study の結果を踏まえ、平成 13 年度から大阪府内の三次救急医療施設 (10 施設) での多施設研究 (prospective な長期予後追跡調査) を開始する予定である。

重症頭部外傷急性期のキセノン CT 法による脳血流量測定では、脳血流量は低下しているとする報告が多い。しかし我々の凌駕し得た範囲でキセノン CT 法で重症頭部外傷患者の脳血流量を 6 週間の長期にわたり経日的に測定した報告は見あたらない。本研究の最も驚くべき結果は、6 例中 2 例に見られるように脳血流量の長期フォローの結果、重症頭部外傷例で経日的に脳血流量が低下していく症例が存在するという点である。1 例は両側瞳孔散大、脳ヘルニアを来し、他の

1 例は頭蓋内圧が高値で、3 ヶ月後の予後も植物状態である重症例で、2 例とも 6 週目には、キセノン CT 法での脳虚血閾値とされる $18\text{ml}/100\text{g}/\text{min}$ 以下の脳血流量値を全脳にわたり示したことである。しかも症例 1 はこのような脳血流量でも介助なしで食事を摂取可能であり、著しい高次脳機能障害を認めるものの簡単な会話は可能であった。もちろん上記の脳虚血閾値は、他施設の同じキセノン CT 法での測定であるがスキャンプロトコールに違いがある。しかし多くの報告で $16\sim 20\text{ml}/100\text{g}/\text{min}$ が脳虚血閾値とされている。また当センターで 31 歳男性と 34 歳男性の 2 名の健常人でのキセノン CT 法での脳血流量測定結果は諸家の健常人の脳血流量と違いはなかった。上記 2 症例とコントロール 2 名で脳血流量測定のため解析データを検討すると、終末呼気中キセノン濃度曲線、各関心領域のコンフィデンス値、 k 値、 λ 値に大きな違いはなく唯一の違いは、キセノンによる CT 値上昇の差であった。これら 2 症例の脳血流量の絶対値は低く出すぎている可能性があるが、なぜこのような血流量の低下がおきるのか今後の検討が必要である。

残りの 4 症例のうち、脳血流量の低下もなく高次脳機能障害をきたさなかった症例 3 に対して、他の 3 症例は、高次脳機能障害を来している。特に症例 5 は 6 週の時点で、また症例 6 は 5 ヶ月を経過しても、その脳血流量は諸家の報告する同年齢の健常人に比し低下しており、脳血流量の低下が高次

脳機能の障害に関係する可能性が示唆された。しかしながら今回の検討では症例数が少なく、脳血流量と高次脳機能の関係に関しては、今後症例数を増やして検討する必要がある。

脳活動に伴う脳血液量の変化をベッドサイドで計測できる機器は現時点で光トポグラフィーだけであり、重症頭部外傷患者の脳機能を光トポグラフィーを用いて計測した報告は皆無である。そこで、本年度の前半では、疼痛刺激、正中神経刺激、光刺激、等の多様な刺激入力に対する脳血液量の変化を光トポグラフィーを用いて計測する方法を確立し、本年度後半から実際の測定を開始した。その結果、意識障害をともなう重症の中枢神経損傷患者において、機能障害と脳循環における自動調節機能の関係が示唆された。これまで、自動調節機能の局所的障害とそれにともなう機能障害の関係について調べた報告はほとんどない。脳循環における自動調節機能の重要性、および意識障害のメカニズムに対する理解を深める上で有意義な結果であると考えられる。また、本測定法はベッドサイドで簡便に行なうことが可能であり、植物状態か否かも含めた脳機能予後の診断を早期に行うことが可能になると考えられる。近赤外光計測は最近開発されたばかりの脳機能計測法であり、脳賦活にともなう血流変化以外に皮膚血流変化による信号値への影響が未解決のままである。しかし、脳死患者による測定結果は、皮膚血流変化による信号値への影響が非常に小さいことを示し

ており、今後の近赤外光計測研究の全般において有意義な結果である。

重症頭部外傷患者が意識を回復した後の高次機能障害に関しては、記憶障害や認知機能障害、注意障害が多いと報告されている。本研究の現時点では初期評価のみを行った段階であるため明瞭な傾向は抽出できないが、今回の症例群では言語性の記憶障害が目立つという印象があった。過去の報告でも、左側頭葉前半部の挫傷や、側頭葉内側面の障害、び慢性脳損傷などを有する症例において、記憶障害が回復しがたいことが示唆されている。今回の報告では、単に左半球損傷例が多かったために症状に偏りが出た可能性もあるが、あるいは頭部外傷後に高次脳機能障害が問題となる患者には、左半球損傷例が多いという可能性を示唆するものであるかもしれない。

我々が delayed neuronal loss に関する最初の論文を発表 (in press) した時には、delayed neuronal loss は『頭蓋内圧は高いが中等度脳低温療法の併用によりコントロールすることができた最重症患者』にのみ観察された現象であった。その時に対比された患者群は『頭蓋内圧は高いが中等度脳低温療法を併用しなかった』ために、生存したのは17例中わずか3例で、そのうち長期追跡調査が可能だったのは2例であった。したがって、2群間の比較(中等度脳低温療法の影響について)を行うことができず、delayed neuronal loss の発生に中等度脳低温療法が強く関与しているかどうかは断定できなかった。今回の研究結果か

ら、頭蓋内圧が従来の治療法で 25 mm Hg 未満にコントロールできる患者（いわゆる頭蓋内圧の低い患者）に中等度脳低温療法を併用しても delayed neuronal loss が認められないことが判明した。このことより、中等度脳低温療法そのものが delayed neuronal loss を引き起こしているのではなく、長時間の頭蓋内圧亢進や他の条件が相互作用を及ぼしあって delayed neuronal loss が惹起されるものと考えられた。今後は、delayed neuronal loss の発生が予想されるような症例（従来の治療法で頭蓋内圧をコントロールできずに中等度脳低温療法を併用したような生存例）の長期経過を綿密に追跡調査していく必要がある。

一方基礎実験では、瀰慢性脳損傷モデルにおける脳由来神経栄養因子（BDNF）投与の効果に関する研究と、小胞体ストレスタンパク ORP150 と虚血性神経細胞死との関係についての研究、ならびに二次的脳損傷における microglia の役割に関する研究を行った。

BDNF は発生期における神経細胞の生存維持、分化に作用しているが、成熟脳でも広く豊富に存在している。神経細胞の生存を維持するとともに、近年の知見によれば順行性に軸索を輸送されシナプス伝達の増強に重要な作用を行っていると考えられている。後者の重要な系として青班核よりの中枢ノルアドレナリン投射系が注目されている。これまでに、免疫染色により青班核神経細胞における損傷後の

BDNF 染色性を検討した。脳損傷を加えていない対照群では、青班核神経細胞は BDNF 免疫染色において軽度に陽性を示していたが、受傷後 1 日では同部神経細胞の BDNF 染色性が増強された。さらに青班核よりの投射繊維においても BDNF 染色が強く陽性に認められた。1 週、2 週、4 週後の標本においては、BDNF 染色性は低下しほとんど認められなかった。損傷後早期の BDNF 軸索輸送の停滞とその後の産生低下が示唆され、外部よりの補充により何らかの治療効果が期待し得ると推測された。

そこで本研究では、ミニポンプを用いて BDNF を脳室内に持続投与を行った。受傷 2 日では行動性が非外傷群に対して軽度低下していたが、対照群との差はなく、1 週、2 週の時点では BDNF 非投与群に比して著しい活動性の増加を示し、非外傷群と比べてもむしろ行動量が増加していた。さらに、動物の行動は正常動物に認められるパターンであった。BDNF 投与終了後には、亢進した活動性は認められないが、対照群と同等レベルの行動を示し、非投与群とは明らかな差異を認めた。この行動改善効果の機序としては、投与された BDNF によるシナプス伝達の増強などが考えられる。

BDNF 投与の副作用としては、まず体重減少があげられる。脳損傷を受けた動物は 2 週後に約 10% の体重減少を呈するが、BDNF 投与群では約 30% もの体重減少が生じた。過去の文献にも同様の報告があり、本研究の結果は合致するものである。視床下部でのセ

ロトニン、ドパミンなどの変動との関係が示唆されている。今回の行動改善効果も種々の神経伝達物質の作用が増強されたことによる可能性を示唆するものではないかと考える。これらの変動についても今後検索する必要がある。

分化や発生、免疫細胞系にみられるアポトーシスを介した細胞死は、一般にミトコンドリアを起点とし、それに関するさまざまな因子が同定されている。しかしながら、ORP150 の過剰発現が低酸素による細胞死を抑制するという事実は小胞体を起点とする細胞死の存在を示唆する。デング熱は神経細胞を侵すウイルス感染症であるが、培養神経細胞にデング熱ウイルスを感染させることにより未熟なウイルス構成タンパクが小胞体に蓄積し、細胞死を引き起こす可能性が報告されている。また、マクロファージなどの貪食細胞が取り込んだ変性蛋白・脂質などを処理する際に小胞体由来の活性酸素が細胞死を引き起こす可能性が報告されている。このように虚血による神経細胞死において小胞体の機能変化がアポトーシスのトリガーになっている可能性がある。また、BDNFをはじめとする神経栄養因子は細胞外に分泌されて細胞膜上に存在する受容体と結合し神経保護作用を示す。低酸素あるいは虚血時には神経栄養因子は小胞体に蓄積され細胞外に分泌されないが、ORP150 が過剰に存在すると小胞体から細胞外への輸送を促進することにより神経保護作用を示すと考えられる。あるいは虚血

時におこって小胞体の機能変化からミトコンドリアへのシグナル伝達を抑制している可能性も考えられる。本研究は神経細胞に的を絞り実験を行ったが、心筋梗塞をはじめとする他の虚血性疾患の治療に役立てうるかもしれない。

E. 結論

重症頭部外傷患者の長期追跡による脳機能回復機構の解明と、機能回復を積極的に促進する慢性期治療法の開発』をメインテーマにして、以下の研究を行なった。臨床研究では、長期植物状態からの回復時期の解明を目的に、植物状態を呈している重症頭部外傷患者の長期予後追跡調査と、キセノンCTを用いた脳血流量の評価を行った。その結果、全体の67%で意識が平均4.1±2.8ヶ月で回復した。MD以上のレベルに改善したのは2例(14%)であり、意識回復後もADL(日常生活動作)は障害されていた。認知能力のうち、摂食に関する能力は意識回復とともに比較的早期に回復するが、排泄及び整容動作に関する能力は回復が困難であることが判明した。また若年者で意識回復の頻度が高い傾向を認めた。キセノンCT法を用いた脳血流量の評価では、頭部外傷の重症度が高いほど、脳血流量が低下しており、しかも低下した脳血流量がさらに経日的に減少する症例が存在することが判明した。また脳血流量の低下が高次脳機能障害に関係することが示唆された。植物状態からの回復予知法の

開発を目的として、近赤外光トポグラフィを用いた中枢神経系機能と血流動態の解析を行った。その結果、機能障害と脳循環の自動調節機能の破綻との関係が示唆され、脳機能障害の予後診断法として近赤外光トポグラフィは有用であると考えられた。意識回復例での高次脳神経機能の解析を行ったが、現段階では明瞭な傾向を抽出するには至っていない。今後症例を蓄積し頭部外傷後の脳機能障害の傾向や、追跡調査による回復過程の探索の必要性が示唆された。また外傷後遅発性進行性脳萎縮 (delayed neuronal loss) の機序には、中等度脳低温療法が直接関与するのではなく、同療法を併用しなければコントロールできない程の高い頭蓋内圧がその発生に強く関与していると考えられた。基礎研究では、脳室内に BDNF を持続投与することにより動物の行動性が活発となることが定量的に確認された。今後の臨床応用に向けて、投与時期、投与量、安全性など検討を加える必要が示唆された。また、小胞体に局在する ORP150 が虚血耐性にとっての key factor であることがわかった。今後小胞体とミトコンドリアのクロストーク、特に小胞体ストレスによる細胞死にミトコンドリアの機能変化が如何に関わっているかを明らかにすることが重要と思われる。さらに外傷性脳損傷後の脳内微小血管の破綻に伴う脳浮腫の増強、遅発性脳出血などの二次的脳損傷に protease である uPA や microglia 由来の MMP-9

が関与することが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

(主任研究者)

1. Shiozaki T, Hayakata T, Taneda M, Nakajima Y, Hashiguchi N, Fujimi S, Nakamori Y, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H, and the Mild Hypothermia Study Group in Japan: A multicenter prospective randomized controlled trial on the efficacy of mild hypothermia for severely head-injured patients with low intracranial pressure. *J Neurosurg* 2001, 94:50-54.
2. Shiozaki T, Akai H, Taneda M, Hayakata T, Aoki M, Oda J, Tanaka H, Hiraide A, Shimazu T, and Sugimoto H: Delayed hemispheric neuronal loss in severely head-injured patients. *J Neurotrauma* (in press).
3. Hashiguchi N, Ogura H, Tanaka H, Shiozaki T, Shimazu T, Sugimoto H: Enhanced expression of heat shock proteins in leukocytes from trauma patients. *J Trauma* 2001, 50:102-107.
4. Ishikawa K, Tanaka H, Shiozaki T, Takaoka M, Ogura H, Kishi M, Shimazu T, and Sugimoto H: Characteristics of infection and leukocyte count in severely head-injured patients treated with mild hypothermia. *J Trauma* 2000, 49: 912-922.

5. Yamamura H, Hiraide A, Matsuoka T, Tanaka H, Shimazu T, and Sugimoto H: Effect of growth hormone on brain oedema caused by a cryogenic brain injury model in rats. *Brain Injury* 2000, 14: 669-676.

6. Ishikawa K, Tanaka H, Nakamori Y, Hosotsubo H, Ogura H, Nishino M, Shimazu T, and Sugimoto H: Difference in the responses after administration of granulocyte colony-stimulating factor in septic patients with relative neutropenia. *J Trauma* 2000, 48: 814-825.

(分担研究者)

1. Mitsuda N, Ohkubo N, Tamatani M, Young-Don Lee, Taniguchi M, Namikawa K, Kiyama H, Yamaguchi A, Sato N, Ogihara T, Michael P. Vitek, Tohyama M. Activated CREB Regulates Neuronal Expression of Presenilin-1. *J. Biol. Chem.* (in press).

2. Yamaguchi A, Tamatani M, Matsuzaki H, Namikawa K, Kiyama H, Vitek MP, Mitsuda N, Tohyama M. : Akt activation protects hippocampal neurons from apoptosis by inhibiting transcriptional activity of p53. *J. Biol. Chem.* (in press).

3. Ohkubo N, Mitsuda N, Tamatani M, Yamaguchi A, Lee YD, Ogihara T, Vitek MP, Tohyama M,

(2000) Apoprotein E4 stimulates CREB's transcriptional Activity through the ERK pathway. *J. Biol. Chem.* (in press).

4. Tamatani M, Mitsuda N, Matsuzaki H, Okado H, Miyake S, Vitek MP, Yamaguchi A, Tohyama M. : A Pathway of Neuronal Apoptosis Induced by H/R: Roles of NFkB and Bcl-2. *J. Neurochem.* 2000, 75: 683-693.

5. Che YH, Tamatani M, Yamashita T, Gomi F, Ogawa S, and Tohyama M. Changes of protein inhibitor of neuronal nitric oxide synthase mRNA following facial nerve transection. *J. Chem. Neuroanat.* 2000, 17: 199-206.

6. Taniguchi M, Yamashita T, Kumura E, Tamatani M, Kobayashi A, Yokawa T, Maruno M, Kato A, Ohnishi T, Kohmura E, Tohyama M, Yoshimine T. : Induction of aquaporin-4 mRNA after middle cerebral artery occlusion in rat. *Brain Res. Mol. Brain. Res.* 2000, 78: 131-137.

7. Bando Y, Ogawa S, Yamauchi A, Kuwabara K, Ozawa K, Tamatani M, Yanagi H, Tohyama M. : The 150 kDa Oxygen-regulated protein (ORP150) functions as a novel molecular chaperone in the protein transport of the MDCK cells. *Am. J. Physiol.* 2000, 278: C1172-1182.

8. Che YH, Tamatani M, Tohyama M. : Changes in mRNA for post-synaptic density-95 (PSD-95)

and carboxy-terminal PDZ ligand of neuronal nitric oxide synthase following facial nerve transection. *Brain Res. Mol. Brain. Res.* 2000, 76: 325-35.

9. Kataoka K, Asai T, Taneda M, Ueshima S, Matsuo O, Kuroda R, Kawabata A, Carmeliet P: Roles of urokinase type plasminogen activator in brain stab wound. *Brain Research* 2000, 887: 187-190.

10. Kataoka K, Taneda M, Asai T, Yamada Y: Difference in nature of ruptured and unruptured cerebral aneurysms. *Lancet* 2000, 355:203.

11. Kataoka K, Sumii T, Asai T, Yamada Y, Kuroda R, Tsuzuki T, Kinoshita A, Taneda M: Successful treatment of large malignant tumor involving the skull base by radiosurgery combined with intraarterial chemotherapy and embolization. *Minim Invasive Neurosurg* 2000, 43:30-32.

12. Kohmura E, Yuguchi T, Sakaki T, Nonaka M, Fujinaka T, Hayakawa T, Yoshimine T: Changes in tissue-plasminogen activator mRNA expression following cortical ablation in the rat brain. *J Mol Neurosci* 2000, 14: 53-59.

13. Taniguchi M, Yamashita T, Kumura E, Tamatani M, Kobayashi A, Yokawa T, Maruno M, Kato A, Ohnishi T, Kohmura E, Tohyama M, Yoshimine, T: Induction of aquaporin-4 mRNA after middle cerebral artery

occlusion in rat. *Mol Brain Res* 2000, 78: 131-137.

14. Hagihara Y, Saitoh Y, Kaneda Y, Kohmura E, Yoshimine T: Widespread gene transfection into the central nervous system of primates. *Gene Therapy* 2000, 7: 759-763.

15. Y. Ueda, H. Kashiba, M. Ishii, T. Yanagida, Y. Kitamura and Y. Saeki : Sound Effect of a Music Box on EEG. *Journal of International Society of Life Information Science* 2000, 18: 69-275.

16. Y. Ueda, K. Kuroiwa, H. Zenjyu, T. Katano, S. Kame, H. Kashiba, T. Yanagida, Y. Kitamura, Y. Oshiro, Y. Tokimoto and T. Nomura : The study of meditation and image evocation using functional MRI. *Journal of International Society of Life Information Science* 2000, 18: 407-412.

17. Y. Ueda, K. Kuroiwa, H. Zenjyu, T. Katano, S. Kame, H. Kashiba, T. Yanagida, Y. Kitamura, Y. Oshiro, Y. Tokimoto and T. Nomura : The study of meditation and image evocation using functional MRI. *Journal of International Society of Life Information Science* 2000, 18:407-412.

学会発表

1. 塩崎 忠彦、速形 俊昭、田中 裕、島津 岳士、杉本 壽：『重症頭部外傷後の植物状態からの長期自然回復過程』 第60回日本脳神経学会総会（2001年10月）発表予定。

2. 塩崎 忠彦、速形 俊昭、田中 裕、島津 岳士、杉本 壽：『長期植物状態からの回復時期の解明』 第29回日本救急医学会総会（2001年11月）発表予定。

3. 塩崎 忠彦、速形 俊昭、田中 裕、島津 岳士、杉本 壽：『長期植物状態からの回復時期と急性期脳血流量との関係』 第25回日本神経外傷学会（2002年3月）発表予定。

4. 速形 俊昭、塩崎 忠彦、田中 裕、島津 岳士、杉本 壽：『重症頭部外傷患者の意識回復の度合いと脳血管反応性の関係』 第14回日本脳死・脳蘇生研究会（福岡2001）発表予定。

5. 塩崎 忠彦、速形 俊昭、田中 裕、島津 岳士、杉本 壽：『頭蓋内圧の低い重症頭部外傷患者に中等度脳低温療法は必要か？』 第28回日本救急医学会総会（2000年11月）。

6. 塩崎 忠彦、速形 俊昭、田中 裕、島津 岳士、杉本 壽：『頭蓋内圧の低い重症頭部外傷患者に中等度脳低温療法は必要か？』 第59回日本脳神経学会総会（2000年10月）。

7. 塩崎 忠彦、速形 俊昭、田中 裕、島津 岳士、杉本 壽：『頭蓋内圧の低い重症頭部外傷患者に中等度脳低温療法は本当に必要か？』 第14回日本外傷学会（2000年5月）。

8. 玉谷 実智夫： NF kappa B

の活性化は低酸素再酸素化後の神経細胞死を抑制する、2000年解剖学会（横浜）

9. 玉谷 実智夫：小胞体の機能制御による虚血性神経細胞死の防御、2000年神経化学学会（金沢）

10. 玉谷 実智夫：VEGFは虚血による神経細胞死を防ぐ、2000年神経化学学会（金沢）

11. 玉谷 実智夫：Aktの活性化はp53による細胞死を抑制する、2000年神経化学学会（金沢）

12. 種子田護：手術顕微鏡の機能拡張オプション、第9回脳神経外科手術機器学会、2000年4月名古屋

13. 種子田護：神経内視鏡のinstrumentation、第29回日本脳卒中外科学会、2000年4月東京

14. 種子田護：無症候性脳動脈瘤についての最近の論点、手術手技での留意点、第20回日本脳神経外科コンGRESS、2000年5月横浜

15. 片岡和夫、朝井俊治、種子田護、岩崎弘充、松尾理、黒田良太郎：外傷性脳損傷におけるurokinase type plasminogen activatorの役割、第23回日本神経外傷学会、2000年4月福島

16. 片岡和夫、種子田護、朝井俊治、山田恭史、中村英剛、寺本佳史：脳動脈瘤が破裂にいたるメカニズムについて、第59回日本脳神経外科学会、2000年10月福