

分担研究報告書

(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」)

「頭部外傷後の高次神経機能の変化について」

分担研究者 西川 隆 大阪大学大学院医学系研究科神経機能医学講座 講師

協力研究者 八田 直己 大阪大学大学院医学系研究科神経機能医学講座

研究要旨:頭部外傷患者の高次脳機能障害について、その回復過程、障害の傾向について検討するため、大阪大学医学部附属病院特殊救急部へ搬送され入院した患者のうち、高次脳機能障害が疑われた患者について、神経心理学的検査(MMSE、SLTA、WMS-R、WCST、go-no go test、信号動作、パントマイム、手指命名)を行った。2001年3月の時点では9例のデータが得られているが、明瞭な傾向は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ようであった。今後、更なる症例の蓄積により脳機能障害の傾向を探ると共に、現在の症例群の追跡によって脳機能障害の回復過程についても検討を加えたい。

A. 研究目的

本邦の頭部外傷の医療については、種々の治療法の発達により生命予後は著しく改善している。しかしそれに伴って頭部外傷患者の社会復帰が問題となってきた。社会復帰に関する問題点として、麻痺などの運動障害の程度に比して、生活場面での認知や行動の機能障害が目立つ、いわゆる高次脳機能障害が問題となっている。本研究では、外傷後の高次脳機能の評価を通して、その回復過程、障害の傾向について調査する。

B. 研究方法

【対象】

対象は、平成12年度の当院特殊救急部入院患者のうち、頭部外傷を合併し高次脳神経機能の変化が疑われた患者のうち、神経心理学的検査が可能であった9名である。

【方法】

方法は、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、記銘力の評価として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。

C. 研究結果

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、個々の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: (070-1568-6)

35歳 男性 右利き 会社員、

原因: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)

現病歴:平成10年1月7日交通事故。当院特殊救急部へ搬送された際、意識不

明であった(レベルは不明)。その後意識は回復し、7月には自宅へと戻ったが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ヶ月後の平成12年9月5日当科受診となった。

脳画像:

- ・CT:脳梁・中脳に脳挫傷巣
- ・SPECT:大脳半球の軽度血流低下(左により目立つ)

神経心理学的所見(2年8ヶ月時評価)

- (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(+)

- (3),(4)は脳梁病変による半球離断症状
- ・(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
 - ・性格変化についても現在のところ原因病変は不明

症例2:(075-1004-9)

19歳 男性 右利き フリーアルバイター、
原因: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
現病歴:平成12年2月日原動機付自転車
運転中、停車中の自動車に追突し受傷、当院特殊救急部搬送となった。搬送時の意識レベルは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当科受診となった。

脳画像:

- ・CT:左硬膜下血腫、周囲脳実質に浮腫を伴う
- ・SPECT: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。
神経心理学的所見(約1ヶ月時評価)

- (1)Digit span 順唱4桁 逆唱2桁
- (2)構音障害
- (3)Brady kinesia

→(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:(076-5198-0)

25歳 男性 右利き 職歴不明
原因:交通事故による脳挫傷
主訴:感情失禁、漢字書字障害
現病歴:平成11年12月8日交通事故による頭部外傷。

脳画像:

- ・CT: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あり。

神経心理学的所見(約9ヶ月時評価):

- (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

→(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る。

症例4:(076-8851-9)

42歳 男性 右利き 公務員
原因:電撃症
主訴:記銘障害
現病歴:平成12年11月2日仕事先の現場で電撃症受傷。当院特殊救急部搬送時の意識レベルはGCS4-5-6と

clearであったが、受傷に関する記憶やその後も記銘障害が出現したため 11月6日当科受診となった。

脳画像:

・CT:異常所見なし

神経心理学的所見(約1週間後評価)

- (1)MMSE 29/30(3語遅延再生 2/3)
- (2)WMS-R 明らかな記憶障害なし
- (3)江口式(社会的遠隔記憶検査) 明らかな障害なし

症例5:(075-1430-2)

24歳 男性 右利き 職歴不明

原因:交通事故による脳挫傷

主訴:記銘障害

現病歴:平成12年2月19日、バイクに乗っているときにトラックに追突し、当院特殊救急部に搬送となった。搬送時の意識レベルはGCS1-1-1であった。脳挫傷に対して低体温療法(34℃)施行された。2週間後意識状態回復し、高次機能評価のため平成12年5月10日当科受診となった。

脳画像:

・CT:左前頭葉、側頭葉に挫傷巣。右側頭葉にも挫傷巣。

神経心理学的所見(約3ヶ月後評価)

- (1)WMS-R 言語性 MQ、遅延再生、注意集中能力の明らかな障害
- (2)personality change

症例6:(073-8187-8)

30歳 男性 右利き 職歴不明

原因:交通事故による左脳挫傷、左脳内出血、外傷性くも膜下出血

主訴:言語障害

現病歴:平成11年7月22日交通事故に遭

い、当院特殊救急部に搬送され2ヶ月間入院した。その後ボバース記念病院へ転院し、人の名前や固有名詞が出てこないなどの言語障害が著明となった。このため、言語症状の評価の目的で平成12年6月27日当科受診となった。

脳画像:

・SPECT:左側頭葉のほぼ全域から左後頭葉の一部に及ぶ血流欠損、およびこの領域に連続する左頭頂葉、前頭葉の一部に血流低下を認めた。また左視床の血流低下を認めた。

神経心理学的所見(約1年後評価)

- (1)MMSE 22/30
- (2)RCPM35/36

症例7:(077-2087-6)

67歳 男性 右利き 会社役員

原因:交通事故

主訴:言語障害 記銘障害

現病歴:平成13年1月2日交通事故に合い(自損事故)当院特殊救急部へ搬送された。搬送時の意識レベルはGCS4-2-6であった。

脳画像:

・CT:加齢による変化に加え、左側頭前部、外側、皮質一皮質下に挫傷巣
・SPECT:明らかな血流低下および血流増加を認めない

神経心理学的所見(約2週間時評価)

- (1)MMSE25/30
- (2)WMS-R 言語性 MQ、視覚性 MQ、注意集中能力の軽度障害
- (3)SLTA 書字、呼称の障害、語想起障害

症例8:(076-3999-9)

16歳 男性 右利き 高校生

原因:交通事故による

主訴:退行 記銘障害 言語障害

現病歴:平成 12 年 8 月 20 日交通事故による頭部外傷。

脳画像:

- ・MRI:左前頭葉の亜急性硬膜外血腫。
左頭頂葉の皮質挫傷。外傷性くも膜下出血。

神経心理学的所見(約 5 ヶ月後評価)

- (1)MMSE26/30
- (2)WMS-R 言語性 MQ により強い一般的な記憶障害。
- (3)SLTA 読み、書字に強い障害
- (4)語想起にて category7,initial6と障害

症例9:(077-2012-7)

17 歳 男性 右利き 高校生

原因:交通事故

主訴:記銘障害

現病歴:平成 12 年 12 月 28 日バイク運転中転倒し、当院特殊救急部搬送となった。脳画像:外傷による明らかな損傷認めない。

神経心理学的所見(約 2 週間後評価)

- (1)MMSE26/30(時間見当識 3/5 場所見当識 4/5 計算 4/5)
- (2)RCPM34/36
- (3)WMS-R にて明らかな記憶の障害を認めなかった。

D. 考察

頭部外傷患者においては、記憶障害、認知機能障害、注意障害が多いと報告されている。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。

E. 結論

今後さらに症例数を増やして上述の傾向を確認するとともに、各症例を追跡して高次脳機能障害の回復過程を検討する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

分担研究報告書

(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」)

「外傷後遅発性進行性脳萎縮(Delayed Neuronal Loss)の機序の解明」

分担研究者 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講座 助手
研究協力者 島津 岳士 大阪大学大学院医学系研究科生体機能調節医学講座 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講座 助教授
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講座 助手

研究要旨: 外傷後遅発性進行性脳萎縮(delayed neuronal loss)は、従来は致死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我々が初めて見出した病態である(J Neurotrauma, in press)。『中等度脳低温療法がdelayed neuronal lossの発生にどのように関与しているか』を調べるために、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』であり、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は認められていない。この結果から、中等度脳低温療法によって頭蓋内の温度を 34℃に冷却したことではなく、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delayed neuronal lossの発生に強く関与していると考えられた。

A. 研究目的

中等度脳低温療法を施行した重症頭部外傷患者のうち、長期追跡調査が可能であった17例の意識レベルの回復と頭部CT画像所見の変化を解析した結果、半数にあたる8例が従来考えられてきた経過とは全く違う経過をたどっていることが判明した。すなわち、これらの症例では意識レベルが時間経過(月単位)とともに改善しているにもかかわらず、CT画像では逆に低吸収領域が時間経過に伴って拡大して脳萎縮が進行していた。このような現象は今まで報告されておらず、我々はこの現象を『delayed neuronal loss』と名付けた。この変化は、①受傷後1ヵ月半から2ヶ月頃に出現し始め、月単位・年単位で緩徐に拡大する、②脳表の基本構造を保ちながら

萎縮していく、③皮質動脈の分布を超えることはない、等の特徴がみられた。ちなみに1987年から1992年の間の症例で、『従来の治療法で頭蓋内圧をコントロールできた21症例』と『従来の治療法で頭蓋内圧を 20mmHg 未満にコントロールできなかったが中等度脳低温療法を施行しなかった17例のうち生存した2例』では、delayed neuronal lossを認めなかった。

今回の研究目的は、1998年2月から2000年1月にかけて行われた多施設臨床研究の対象患者を追跡調査し、『頭蓋内圧は低いが中等度脳低温療法を併用した患者(34℃群)』と『頭蓋内圧は低く脳平温療法を施行した患者(37℃群)』とを比較することによって、中等度脳低温療法がdelayed neuronal lossの発生にどのように

関与しているかを調べることである。

B. 研究方法

対象は、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°C群45例と37°C群46例)である。対象患者を受傷後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。

C. 研究結果

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°C群45例と37°C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 は認められていない。

D. 考察

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。その時に対象となった患者群には『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25mmHg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。

E. 結論

中等度脳低温療法によって頭蓋内の温度を34°Cに冷却したことではなく、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 delayed neuronal loss の発生に強く関与していると考えられた。

F. 研究発表

【論文発表】

Shiozaki T, Akai H, Taneda M, et al: Delayed hemispheric neuronal loss in severely head-injured patients. J Neurotrauma (in press).

Shiozaki T, Hayakata T, Taneda M, et al: A multicenter prospective randomized controlled trial of the efficacy of mild hypothermia for severely head injured patients with low intracranial pressure. Mild Hypothermia Study Group in Japan. J Neurosurg. 94: 50-54, 2001.

【研究発表】

4. 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)。
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 59 回日本
脳神経学会総会(2000年10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
低温療法は本当に必要か?』第 14
回日本外傷学会(2000年5月)。

G. 知的所有権の取得状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案特許 | なし |
| 3. その他 | なし |

中枢神経外傷に関する研究

分担研究報告書

「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」

分担研究者	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学教授
研究協力者	甲村英二	大阪大学大学院医学系研究科神経機能制御外科学助教授
	湯口貴導	大阪大学大学院医学系研究科神経機能制御外科学助手
	埜中正博	大阪大学大学院医学系研究科神経機能制御外科学
	藤中俊之	大阪大学大学院医学系研究科神経機能制御外科学
	西尾雅実	大阪大学大学院医学系研究科神経機能制御外科学

研究要旨：

本研究では、び慢性脳損傷病態動物モデルを用いて行動異常の定量的検討と脳由来神経栄養因子(BDNF)投与による治療実験を中心として行った。

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秒間の自発行動、探索行動をモノクロCCDカメラで記録、コンピュータ解析した。外傷を加えられた動物では、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。受傷2日では移動距離は $42.9 \pm 4.0\%$ 、1週後 $53.5 \pm 4.9\%$ 、2週後 $55.2 \pm 6.3\%$ と約半減していた。

外傷受傷直後よりBDNF 20 $\mu\text{g/day}$ を2週間連続脳室内投与したところ受傷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、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(1週後 $140 \pm 4.9\%$ 、2週後 $122 \pm 6.3\%$)非外傷群と比べてもむしろ行動量が増加していた。BDNF投与の終了した4週後では $78.7 \pm 8.2\%$ 、8週後 $73.2 \pm 8.8\%$ であり、BDNF投与中に比し減少しているが、BDNF非投与群に対しては有意に増加し、sham群と同等レベルであった。

A. 研究目的

重症頭部外傷患者の救命率は近年向上しつつあるが、慢性期に至っても高次機能障害のために社会復帰ができない患者が依然として多数存在し、社会的に解決を要する問題である。慢性期頭部外傷患者高次機能に及ぼす影響としては、び慢性脳損傷は多大な要素を有していると考えられる。臨床的に慢性期のび慢性脳損傷患者を観察した経験より、これらの患者では注意力が散漫であり自発性に乏しい印象を得

ている。実験動物においても活動性の低下、異常行動が観察されるが、治療実験をすすめるためには単なる定性的観察のみでは不十分であり定量的な解析を行う必要がある。本研究では、これまでに確立した「び慢性脳損傷モデル」動物について、Open Fieldにおける自発運動、移所行動をビデオ解析装置を用いて定量的に解析した。

脳由来神経栄養因子(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、損傷後の青班核神経細胞における BDNF 蛋白の変化を免疫染色により検討し、少なくとも青班核からの BDNF 供給が減少していることが推測された。そこで、本研究では治療実験として BDNF の脳室内投与実験を行い、行動変化を定量的に解析し効果、問題点を検討した。

B. 研究方法

1. び慢性脳損傷モデルの作成

全身麻酔下（包水クロラル 350mg/kg 腹腔内投与）に 500g 雄 SD ラットの頭蓋骨（coronal suture から lambda suture）を露出して金属プレート（直径 2cm、厚さ 1.5mm）を頭蓋骨正中上に固定した。ラットをウレタンフォーム上にのせ、内径 1cm のパイプをプレート上に垂直に保持して、450g の重りをプレートめがけてパイプ内を 1.5m の高さより自然落下させ脳損傷を加えた(Fig. 1)。

2. Open Field における自発行動の解析

直径 1 m 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 CCD カメラで記録、解析した。CCD カメラよりの映像信号は AXIS 60(Neuroscience Inc.)に送られて二値化処理を受け、動物の移動はリアルタイムに座標系内での指定物体の移動として自動追跡される(Fig. 2)。得られたデータを解析ソフトを用いて処理し、測定時間内の移動パターン、距離(path)、行動開始までの時間(latency)、左右への転回運動(turn)、について定量解析を行った。

動物は昼夜 12 時間のリズムで自由に飲食・飲水可能な条件下で飼育し、行動測定は活動が活発となる夜間に実験を行った。照明を低下させた条件で 2 回反復して測定を行った。受傷前、受傷後 1 日、2 日、1 週間、2 週間の時点で測定を行った。

3. BDNF 脳室内投与実験について

全身麻酔下に Alzet osmotic minipump (Alza model 2002) に 200 μ l の薬液を封入し背部皮下に埋め込み、Bregma 前方 1mm、正中より外側 1.5mm の位置より頭蓋骨に小孔をあけ脳室側のカニューレを 4mm 挿入した(Fig. 1)。本システムにより 2 週間にわたり薬液の注入が脳室内に持続的に行われる。BDNF 群には BDNF20 μ g/day が投与されるように濃度を調整し、対照動物には生食を投与した。

4. 倫理面への配慮

すべての動物実験については、動物の保護及び管理に関する法律、大阪大学動物実験指針、大阪大学医学部動物実験ガイドライン等を遵守し、大阪大学医学部医学科動物実験委員会の承認を得て行い倫理面への十分な配慮を行った。

C. 研究結果

1. び慢性脳損傷モデルについて

動物モデルのすべては受傷直後に一時的に無呼吸を呈し、受傷直後の死亡率は 19.5% (15/77) であり、痙攣発作は受傷直後生存動物の 62.8% に認められた。中等度から高度のび慢性脳損傷モデルといえる。

2. Open Field における自発行動の解析

反復測定を行った予備実験により動物個体間において行動量の差異は存在するが、同一個体においては、ほぼ一定した値が得られることを確認した。各個体で受傷前の測定値

を 100%とした相対値で結果を示すこととした。

動物は field の中心から出発し周囲の壁に沿って回る動きが中心であった(Fig. 3)。Sham 群では麻酔、sham 手術により 2 日後ではラットの活動性が低下していたが、1 週以後では対照群との差は認めなかった(2 日後 path $81.0 \pm 9.7\%$ 、1 週後 $96.4 \pm 10\%$ 、2 週後 $81.7 \pm 5.5\%$ 、4 週後 $96.7 \pm 14.3\%$ 、8 週後 $89.2 \pm 6.8\%$)。外傷を加えられた動物では、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(Fig. 3)。受傷 2 日では path は $42.9 \pm 4.0\%$ 、1 週後 $53.5 \pm 4.9\%$ 、2 週後 $55.2 \pm 6.3\%$ 、4 週後 $56.1 \pm 5.0\%$ 、8 週後 $66.4 \pm 7.4\%$ と移動距離は約半減したままであった(Fig. 4)。Latency は 2 日後 $710 \pm 333\%$ 、1 週後 $651 \pm 228\%$ と延長し、2 週後には $266 \pm 69\%$ 、4 週後 $461 \pm 185\%$ 、8 週後 $457 \pm 193\%$ とやや改善を示すが依然として行動開始の遅延があきらかであった(Fig. 5)。左右への転回運動についても同様の傾向を認めた(Fig. 6)。

3. BDNF 脳室内投与実験について

非外傷群での麻酔、ポンプ埋め込み手術により 2 日後ではラットの活動性が低下していたが、1 週以後では対照群との差は認めなかった。予備実験で非外傷群に対して BDNF 含有ポンプを埋め込んだところ $5\mu\text{g}/\text{day}$ 投与では動物の自発行動が低下する傾向があることが判明したが、 $20\mu\text{g}/\text{day}$ 投与では、対照群と比較して動物の活動性に大きな変化は認めなかった。

外傷群に対して受傷直後よりミニポンプを埋め込み BDNF $20\mu\text{g}/\text{day}$ を投与したところ受傷 2 日では行動性が非外傷群に対して軽度低下していた (path $79.2 \pm 8.1\%$) が、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(1 週後 path $140 \pm 4.9\%$ 、2 週後 path $122 \pm 6.3\%$) 非外傷群と比べてもむしろ行動量が増加していた。動物の行動は 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(Fig. 7)。BDNF 投与の終了した 4 週後 path は $78.7 \pm 8.2\%$ 、8 週後 path $73.2 \pm 8.8\%$ であり、投与中に比し減少しているが、BDNF 非投与群に対しては有意に増加し、sham 群と同等レベルであった(Fig. 4, 5, 6)。

脳損傷を加えることにより動物の体重は約 10%減少するが 4 週後には前値に復した。BDNF 脳室内持続投与により体重現象は増強され、非投与群に比し著しく低下した(2 週後 $71.4 \pm 2.6\%$) が、BDNF 投与終了後は次第に回復した(8 週後 $84.8 \pm 3.6\%$)。(Fig. 8)。

D. 考察

び慢性脳損傷モデルを用いて行動解析ならびに治療実験を試みた。

受傷動物は肉眼的観察によっても明らかに自発活動が低下しており、定量的解析においても肉眼的観察結果が実証された。open field での走行距離、左右への転回運動、また行動開始までの時間も 2 日後より低下し、4 週以後軽度の改善傾向を示したが 8 週後においても依然として受傷前とは著しい差異が認められた。

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されている。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。さらには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。さらには、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違を認めた。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。このような行動改善効果が投与終了後も長期に維持されることより、シナプス形成の可塑性、軸索再生の促進なども寄与しているものと推測される。

BDNF 投与による副作用としては、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 脳室内投与群では約 30% もの体重減少が生じた。過去の文献にも BDNF 投与により体重減少を来すことが報告されており、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、ドー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。BDNF 投与群での受傷直後の死亡率は 24% で非治療群と変化ないが、1 週、2 週での生存が悪く 2 週後の生存は 25% にとどまった。途中死亡した動物においても行動は活発であり死亡原因はいまだ特定されていない。今回の実験では、BDNF が脳実質内への移行性が悪いとの報告があることから、意図的に投与量を過去の報告を上回るものとした。文献的に BDNF 脳室内投与が致死的であったとの報告もなく、BDNF 過剰投与によるものか、他の要因によるものか究明する必要がある。今後 BDNF 投与量の減量、投与時期の変更などの検討を行う必要がある。

E. 結論

びまん性軸索損傷モデルにおける行動異常について open field 法で定量的に解析を行った。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、安全性など種々の面からさらに検討を加えていく必要がある。

F. 研究発表

Kohmura E, Fujinaka T, Yuguchi T, Nishio M, Nonaka M, Nakajima Y, Yoshimine T: BDNF intraventricular infusion improved open field behavioral abnormalities of rats with impact acceleration injury. 5th International Neurotrauma Symposium Oct 1-5, 2000 Garmisch-Partenkirchen, Germany

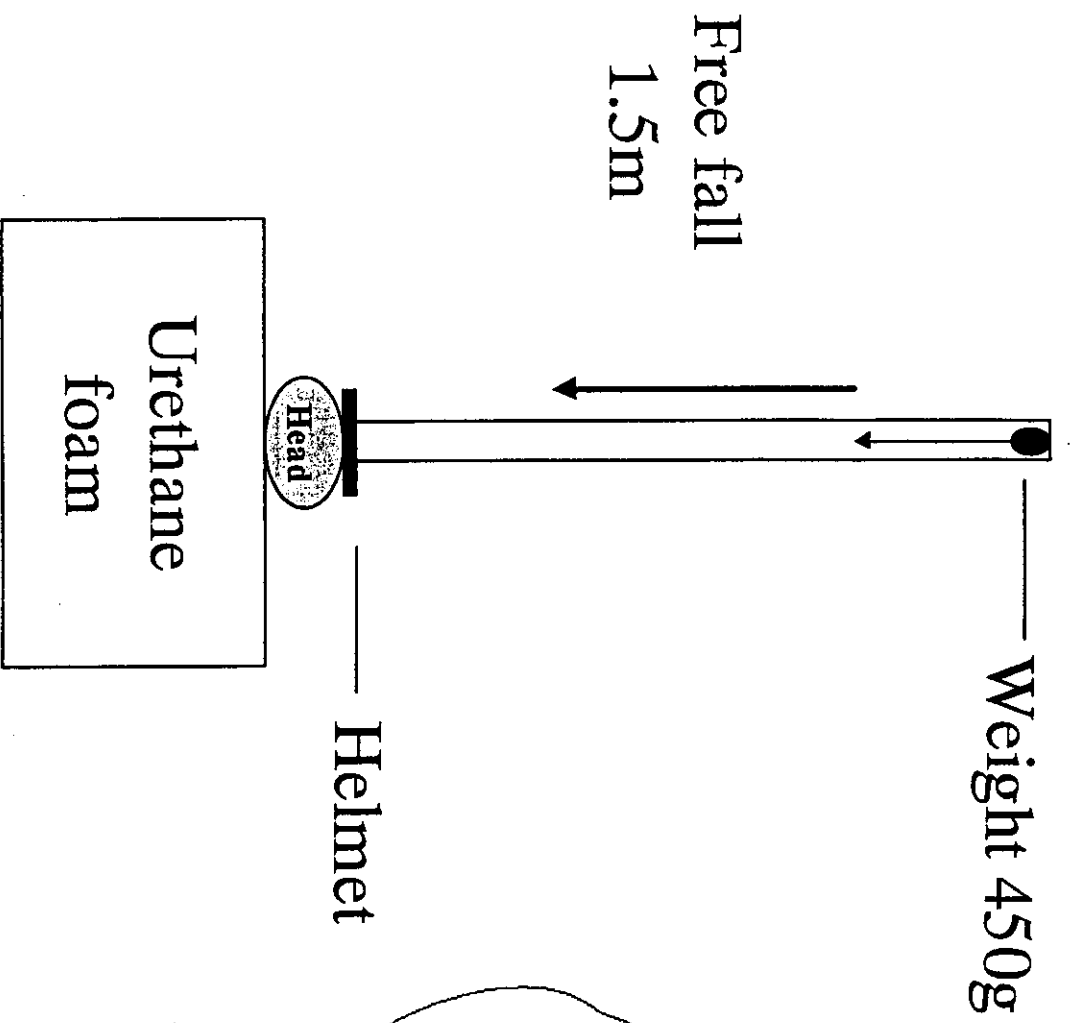
Fujinaka T, Kohmura E, Yuguchi T, Nishio M, Yoshimine T: Accumulation of BDNF protein in the locus coeruleus neurons in an

impact-acceleration brain injury model. 5th
International Neurotrauma Symposium Oct
1-5, 2000 Garmisch-Partenkirchen, Germany
藤中俊之、甲村英二、湯口貴導、埜中正博、西

尾雅実、吉峰俊樹：び慢性脳損傷モデルにお
ける行動変化の定量的解析、第23回日本神
経外傷学会、福島、2000

Fig. 1

Weight-Drop Device



**Osmotic Minipump
(Alza 2002)**

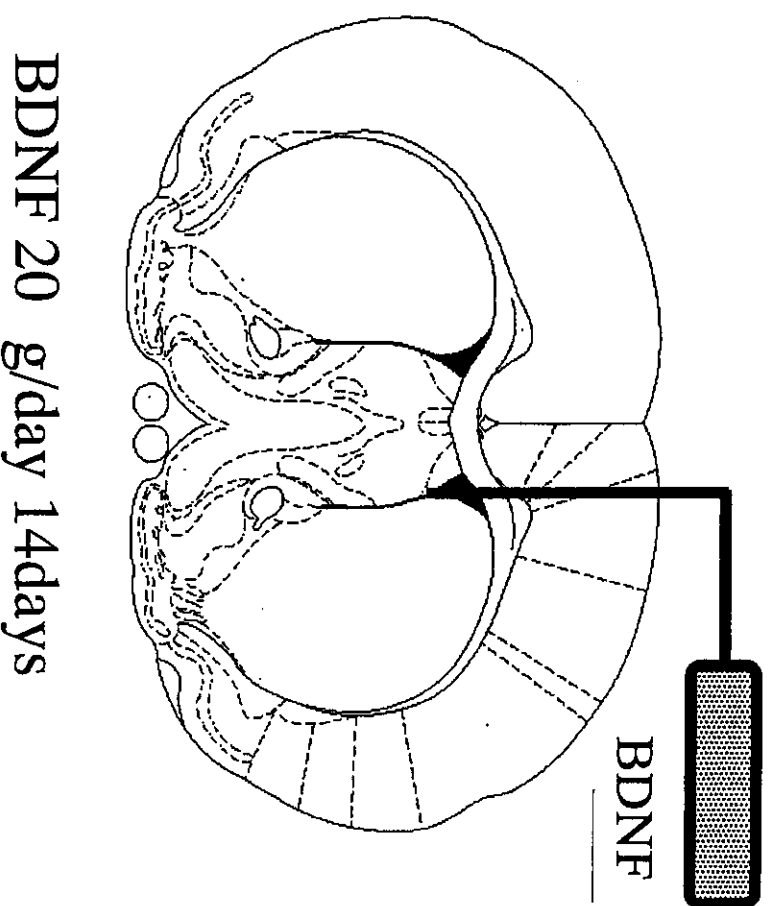


Fig. 2

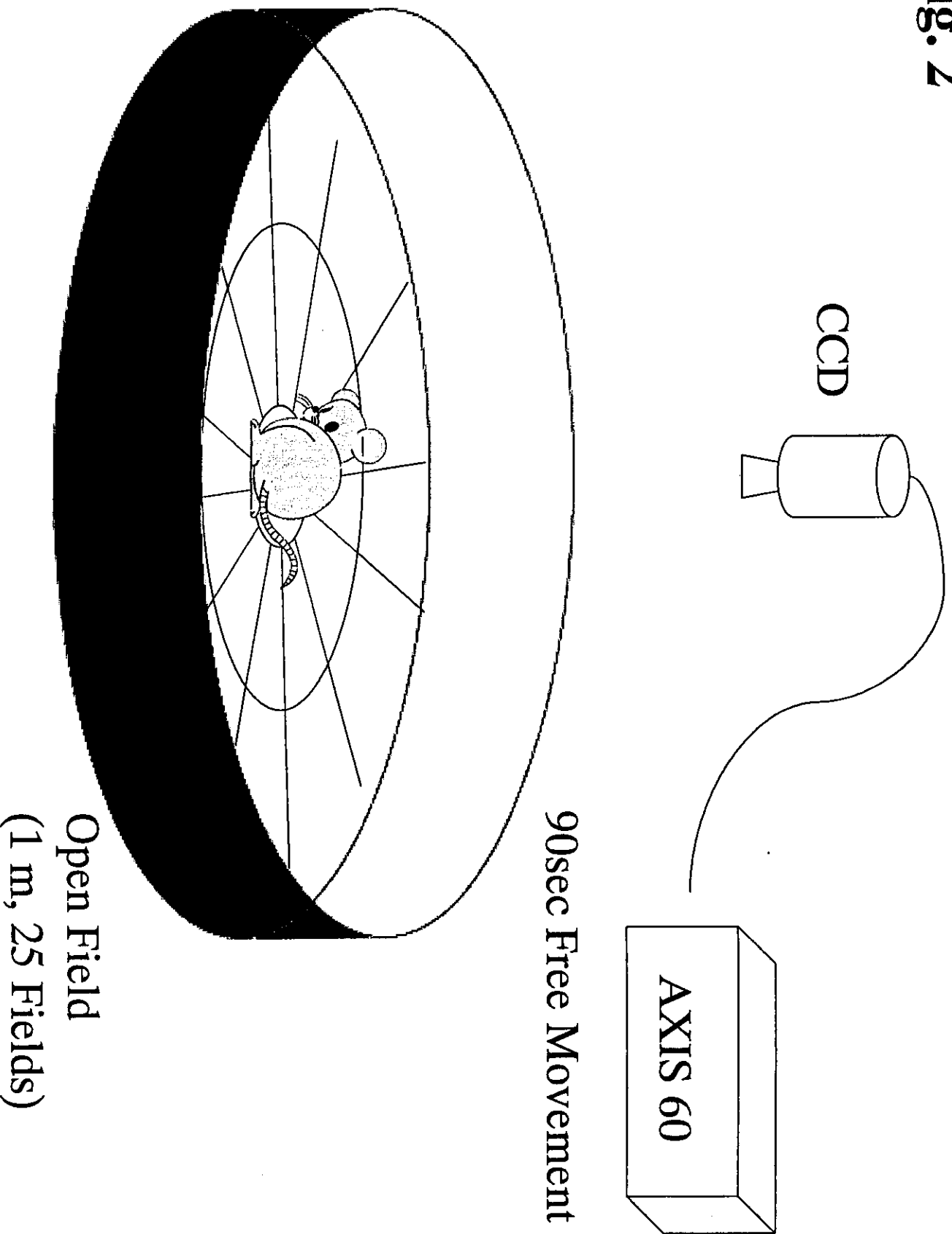
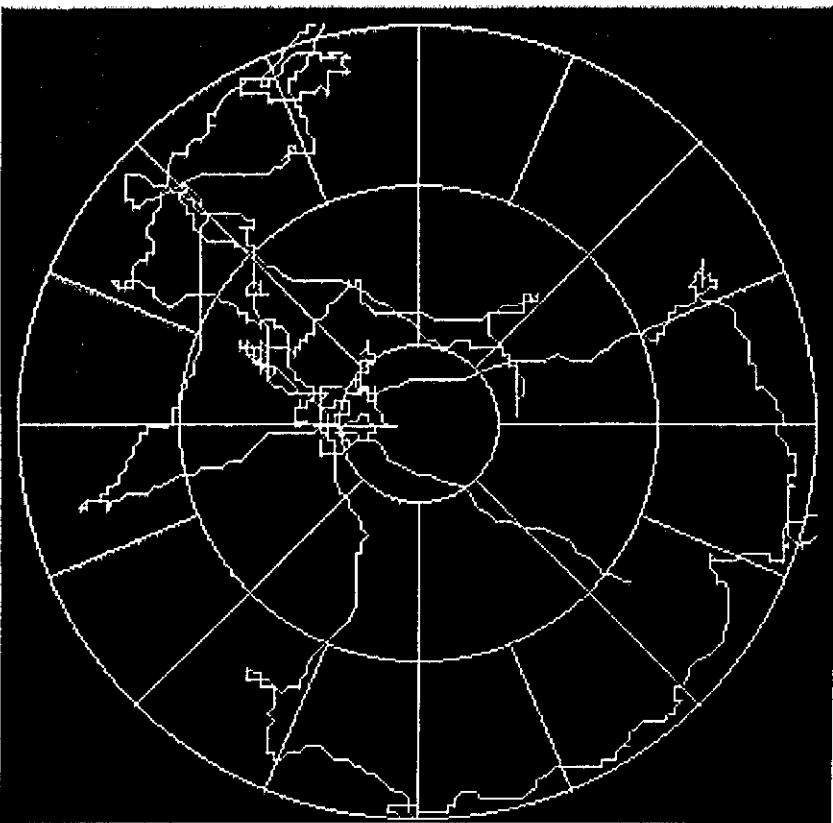
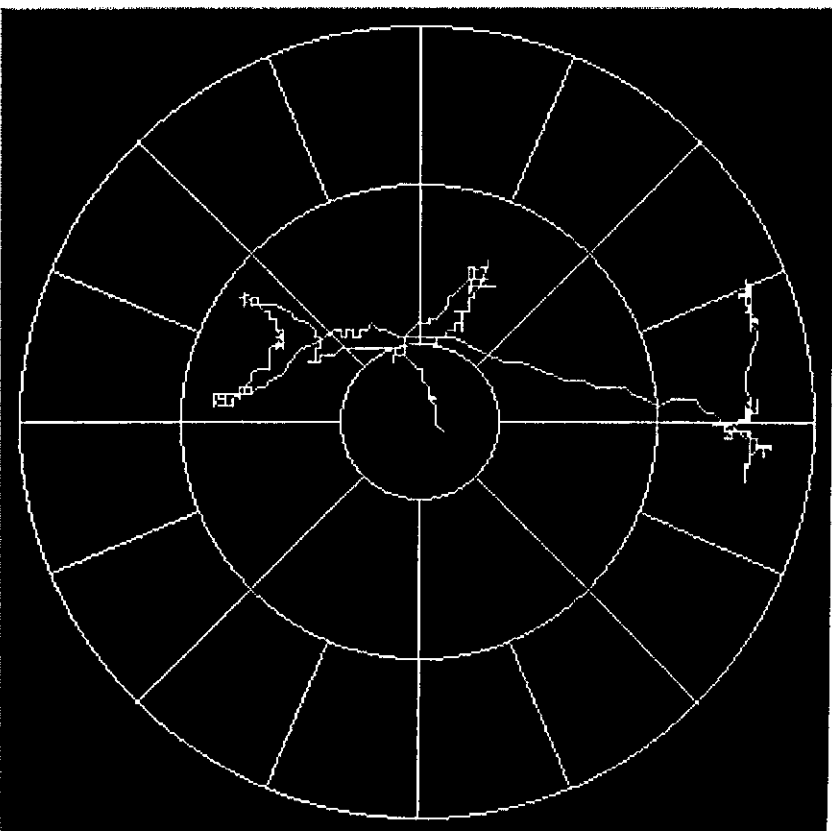


Fig. 3

Open-Field Behavior



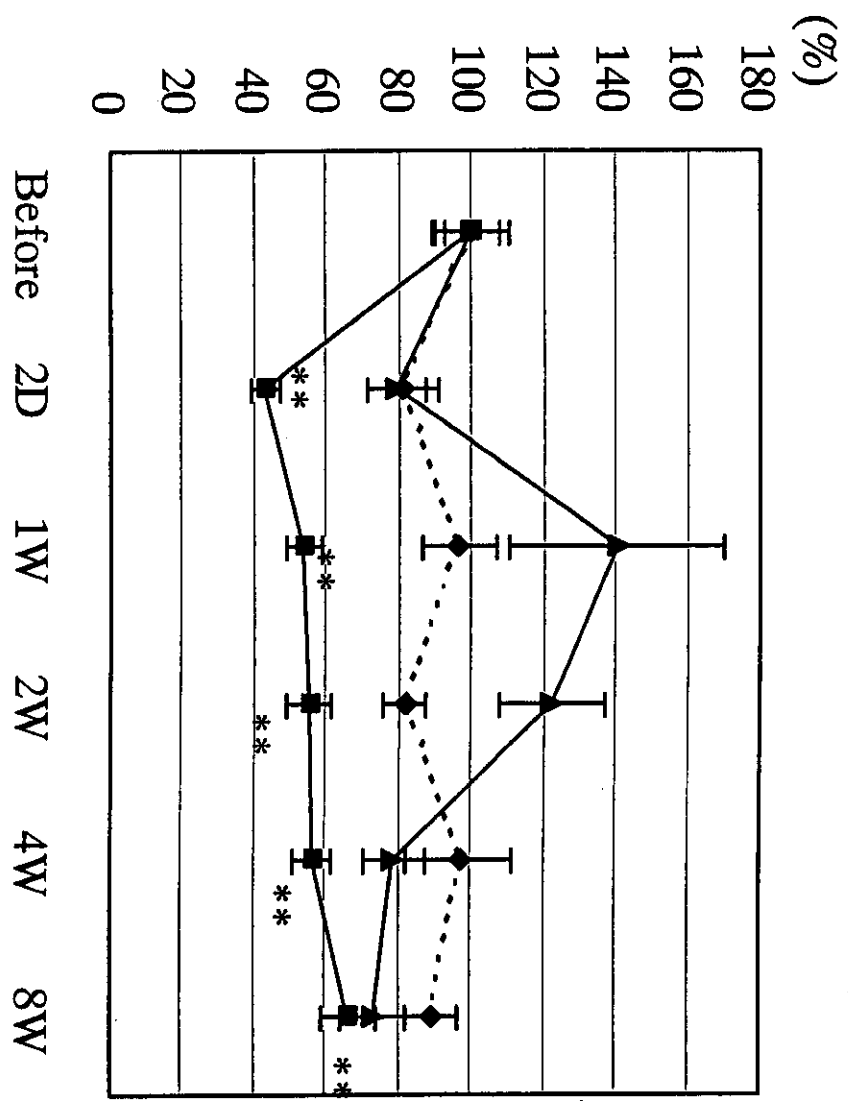
Before DAI



1W after DAI

Fig. 4

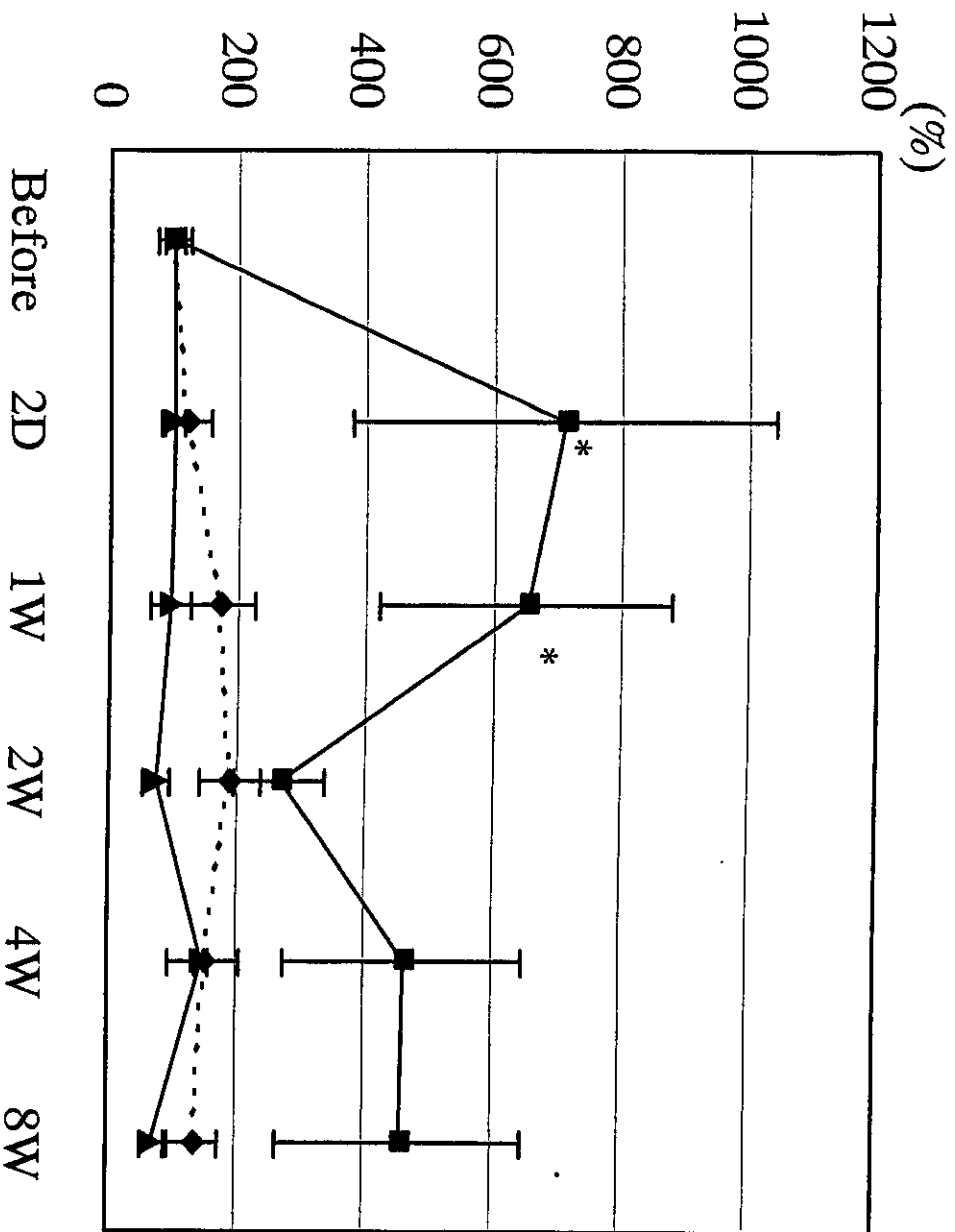
Path



** p<0.01 compared with Before Injury

◆···· Sham
■—— DAI
▲—— DAI-BDNF
P=0.0234
ANOVA with repeated measure

Fig. 5 Latency



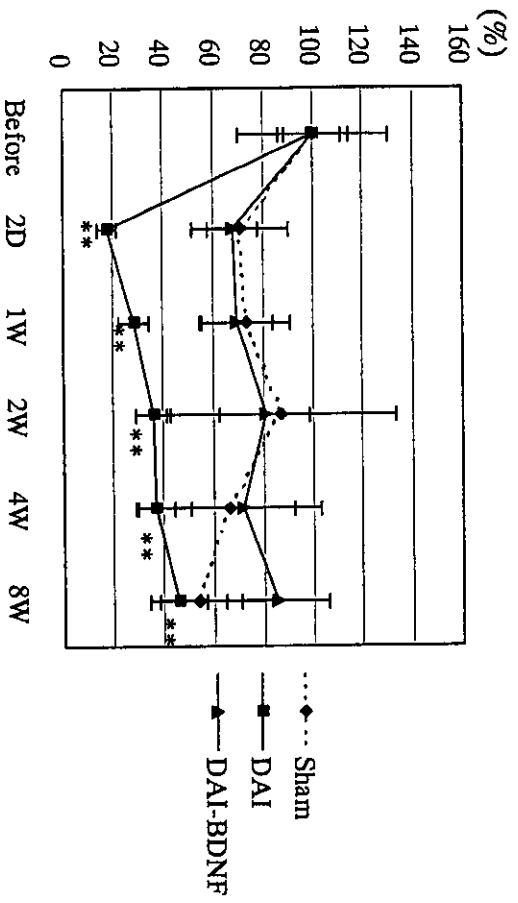
◆···· Sham
 ■— DAI
 ▲— DAI-BDNF

$P=0.2244$
 ANOVA with repeated measure

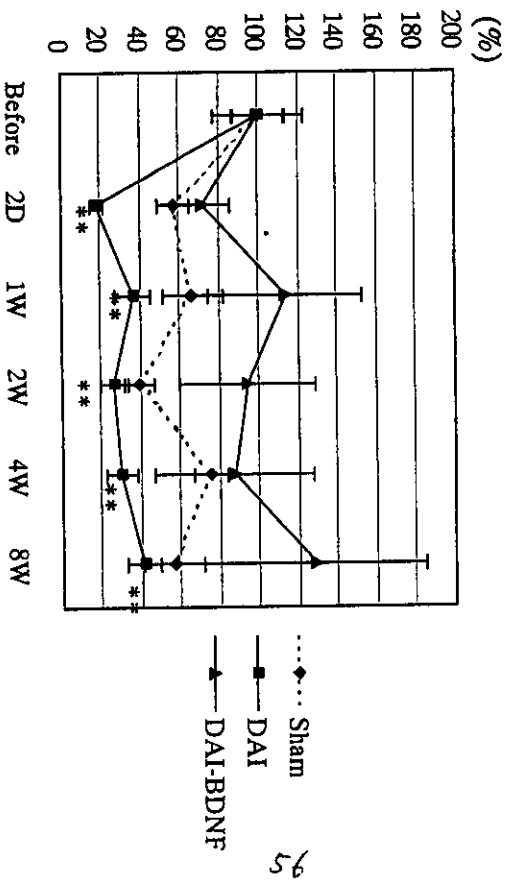
* $p<0.05$ compared with Before Injury

Fig. 6

Right Turn

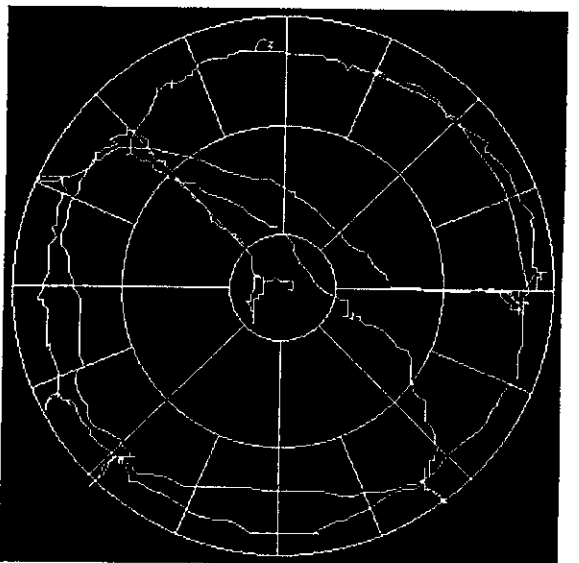


Left Turn

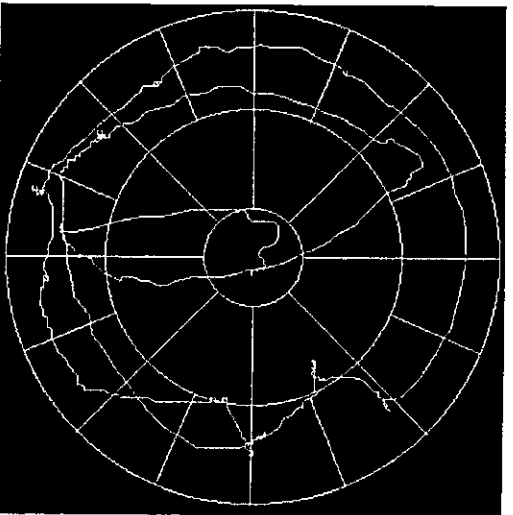


** p<0.01 compared with Before Injury

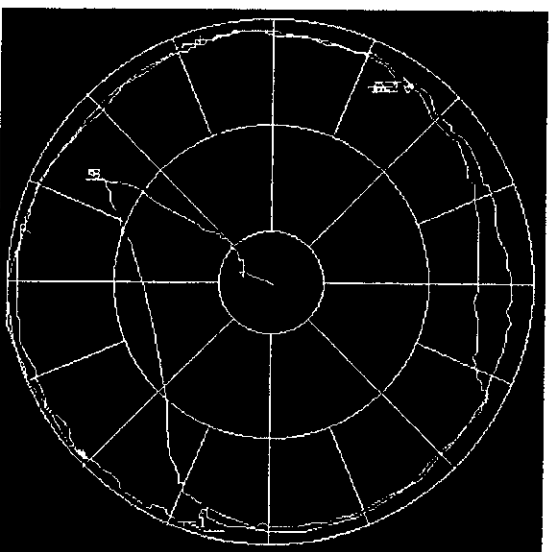
Fig. 7



Before



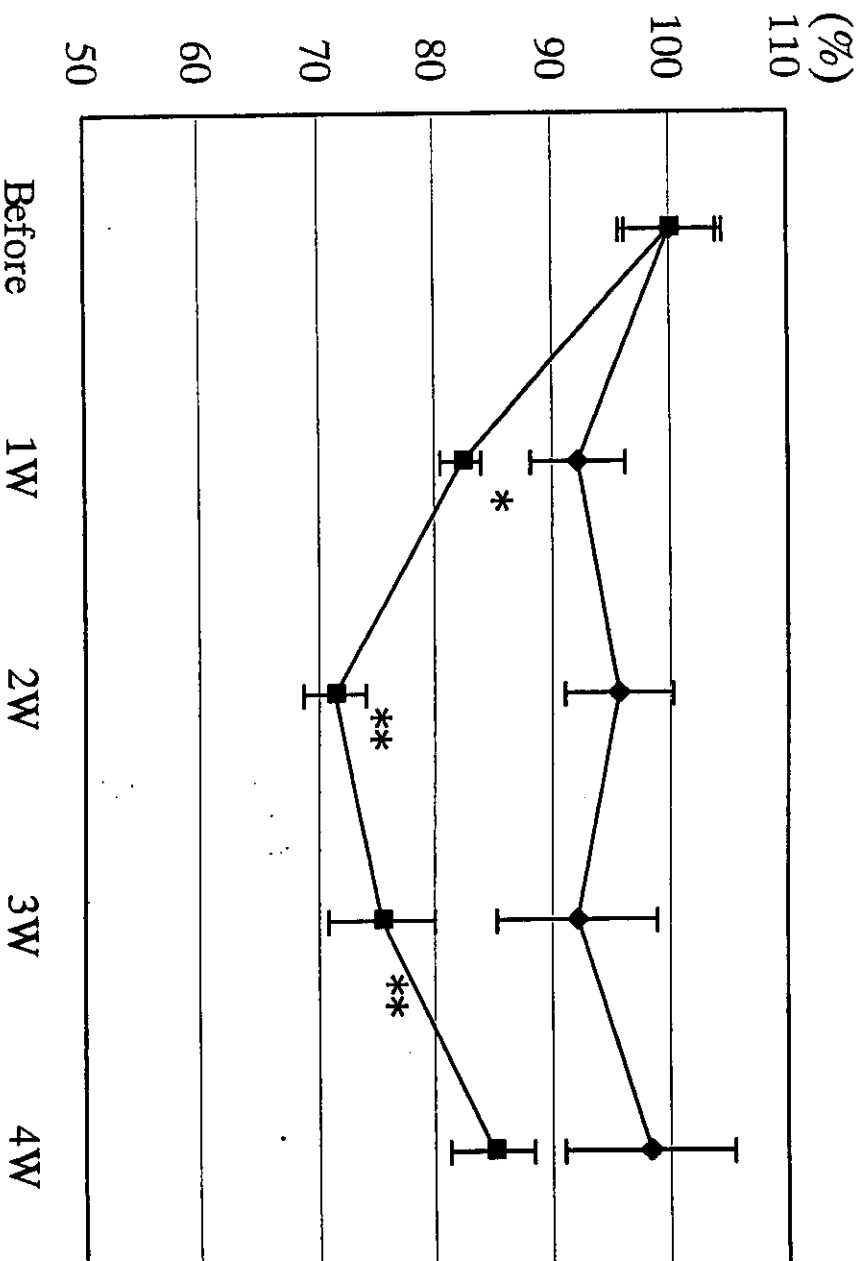
1W after DAI



2W after DAI

**BDNF
(+)**

Fig. 8 Body Weight



◆ DAI
 ■ DAI-BDNF

5

P=0.041
 ANOVA with repeated
 measure

* p<0.05, ** p<0.01 compared with Before Injury