

50010651

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 13 年度 総括研究報告書

主任研究者 杉本 壽

平成 14 (2002) 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 1
杉本 壽

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 20
塩崎 忠彦
2. 重症頭部外傷患者における脳血流量の経日的変化の検討 26
速形 俊昭
3. 近赤外光トポグラフィーを用いた中枢神経損傷患者の評価に関する研究 32
喜多村 祐里
4. 頭部外傷後の高次神経機能の変化について 39
西川 隆
5. 外傷後遅発性進行性脳萎縮 (Delayed Neuronal Loss) の機序の解明 45
塩崎 忠彦
6. 中枢神経再生のメカニズムの研究 49
山下俊英
7. 頭部外傷後の内在性神経幹細胞による神経再生 53
鋤方 安行
8. 中枢神経損傷後の細胞応答反応とその修飾の研究 60
吉峰 俊樹
9. 二次的脳損傷におけるミクログリアの役割に関する研究 65
種子田 護

- III. 研究成果の刊行に関する一覧表 68

- IV. 研究成果の刊行物・別冊 69

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急性期から慢性期にかけての経過を長期間追跡調査することにより、『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』を目標にして、以下の研究を行った。

臨床研究では、

- 1.長期植物状態からの回復時期の解明
- 2.長期植物状態からの意識回復に影響を及ぼす因子の解明
- 3.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
- 4.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
- 5.外傷後遅発性進行性脳萎縮(delayed neuronal loss)の機序の解明

基礎研究では

- 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)長期植物状態からの回復時期の解明

当施設では、受傷1ヶ月後に植物状態を呈していた重症頭部外傷患者に関する長期予後追跡調査を prospective に施行しており、平成 14 年3月現在、24 症例で1年以上の予後追跡調査がなされている。意識回復の経過は①受傷から3ヶ月以内に急激な意識レベル改善を認める症例(10例)、②受傷5～12ヶ月後にかけて徐々に意識レベルが改善する症例(6例)、③植物状態が遷延する症例(8例)の3通りに分かれることが判明した。24例中16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 ± 3.0 ヶ月であった。意識が回復した16例の中で、GOSで Moderate Disability 以上のレベルに改善したのは3例(19%)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。この pilot study の結果を踏まえ、長期植物状態からの自然回復過程を明らかにする目的で、平成 14 年2月より10都府県にわたる26の3次救急医療施設で、prospective な長期予後追跡調査(約100症例/年)を開始した。

(2)長期植物状態からの意識回復に影響を及ぼす因子の解明

当施設での上記24症例を解析して、受傷後1年間の意識回復度合いに影響を及ぼす因子について検討した。来院時意識レベルと意識回復度合いとの関係を調べると、来院時 GCS score が3点4点の最重症例と5点以上の症例とでは、受傷後1年間のDRSの推移に明らかな違いが認められ、来院時 GCS score 5点以上の症例の方が意識回復の度合いが良いことが判明した($p < 0.01$)。しかし、受傷時の年齢、急性期の頭蓋内圧の高低、CT上の脳損傷形態と意識回復度合いとの間に明らかな関係は認められなかった。平成 14 年2月から開始した多施設研究では、CT・MRI による脳損傷の評価、脳波や聴性脳幹反応などの生理学的検査、髄液の生化学的検査(興奮性アミノ酸濃度・各種インターロイキン濃度・神経栄養因子濃度)を施行して、意識回復に影響を及ぼす因子について検討する。

(3)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

XeCT を用いた脳血流量の経日的測定(受傷後 1、2、3、4、6週目)を重症頭部外傷患者でルーチンに施行し、平成 14 年3月の時点で14例の測定が終了した。重症頭部外傷患者では、急性期から慢性期にかけて正常例に比して全般的に脳血流量が低下していることが判明した。受傷6週間後に機能予後良好(GR,MD)となる症例では、受傷3週間後に脳血流量が急激に増大し

て一度正常範囲内に到達するが、その後再度減少して受傷6週間後には正常下限より低い値を示すこと、受傷6週間後に機能予後不良(SD,V)となる症例では、脳血流量は全経過を通じて正常例より低い値を示すこと($p < 0.05$)が判明した。

また、平成14年3月現在、6例の植物状態患者で、脳活動に伴う脳血液量の変化を光トポグラフィーを用いて‘ベットサイト’で計測することに成功した。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、光トポグラフィーは有用であると考えられた。

(4)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

当施設に搬送された重症頭部外傷患者のうち、意識が回復した症例では、高次脳機能の障害程度を prospective に追跡調査(受傷1ヶ月後、6ヶ月後、1年後)し、平成14年3月現在、24例で受傷1ヶ月以内の初期評価を終了している。24例中20例(83%)で何らかの高次脳機能障害(特に記憶力障害)が生じていることから、少なくとも受傷1ヶ月後の時点では、重症頭部外傷患者の大多数で高次脳機能障害が生じていることが判明した。

(5)外傷後遅発性進行性脳萎縮(delayed neuronal loss)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の症例(34℃群45例と37℃群46例)を受傷後2年間追跡した結果、脳低温療法を併用しなければ制御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。また、delayed neuronal loss を示している3症例(受傷10年後、受傷5年半後、受傷4年半後)で、それぞれ follow up CT を撮影したが、やはり現在も delayed neuronal loss が緩徐に進行していることが確認された。

(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 我々は、ミエリン中に存在して神経再生阻害作用を持つ myelin-associated glycoprotein (MAG)の受容体が、binding partner と機能的なシグナルを伝達する因子からなり、この機能的なシグナルを伝達する因子が neurotrophin receptor p75 であることを発見した。また、P75 ノックアウトマウスを用いた実験を行って MAG が p75 を介して神経突起の進展を阻害していることを証明した。
- ② ラット頭部外傷モデルにおいて、側脳室下帯(SVZ)と海馬歯状回顆粒細胞層(SGL)での細胞増殖が認められ、神経幹細胞/前駆細胞の増殖が示唆された。しかし、SVZ の細胞増殖が両側性に認められたのに対して、SGL の細胞増殖は外傷側優位であった。また、損傷部周囲には reactive astrocyte の増殖が認められたが、GFPラベルしたアデノウイルスの実験から、この reactive astrocyte は側脳室下帯の神経幹細胞由来ではないと考えられた。
- ③ アポ E は中枢神経系の主要なアポ蛋白質であり、中枢神経損傷時の病態悪化因子でもある。今回の研究で、脳梗塞部及び梗塞周辺部に発現する ApoE mRNA の産生細胞が神経膠細胞ならびに浸潤マクロファージであることを明らかにした。神経細胞には ApoE mRNA の発現を認めなかった。
- ④ 脊髄圧挫損傷モデルにおいて損傷直後に src family kinase inhibitor PPI を腹腔内投与すると、24時間後の浮腫形成が抑制され、72時間後の損傷範囲も軽減することが判明した。
- ⑤ 大動脈遮断による脊髄虚血再灌流モデルにおいて、遮断時に FITC 標識 NF- κ B デコイを動脈投与することによって NF- κ B が脊髄血管内皮や神経細胞に導入され、脊髄前角細胞の虚血性損傷の抑制や炎症性マクロファージの浸潤抑制に効果があることが判明した。
- ⑥ 脳損傷部に集積するミクログリアは、ケモカイン/サイトカインである LPS/IFN- γ 刺激により、MMP-9 や uPA receptor を発現することが明らかとなった。また、これまで虚血性脳損傷に関与すると考えられていたミクログリア由来の protease tPA は様々なサイトカイン刺激にても発現しないことが明らかとなった。

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

鋤方 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

山下 俊英 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。したがって、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、急性期のみならず慢性期を含めた重症頭部外傷の治療法の開発は社会的要請と言える。

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。ちなみに、当施設が平成12年度までに行った pilot study の結果では、受傷1ヶ月後に植物状態を呈していた重症頭部外傷患者の67%(21例中14例)が1年以内に意識を回復する(植物状態から脱却する)ことが判明しており、長期植物状態からの回復過程が明らかになれば目的意識を持って植物状態患者の医療・介護に励むことが可能になる。しかし現時点では、新しい治療法の有効性を比較するための基本となるデータすら存在しない。今年度中には多施設での prospective な長期予後追跡調査(約100症例/年)を開始して長期植物状態からの自然回復過程を明らかにする予定である。また、XeCT や光トポグラフィを用いて意識回復の程度を評価・予測することが可能になれば医療従事者や家族にとって望外な良報となる。もちろん意識回復の予知法、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。

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が多く見られる。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。しかし、その発生機構や推移については今だ明らかにされていない。高次脳機能障害の発生頻度、障害の程度、長期的な推移など、早急な実態の解明が必要である。また、高次脳機能障害の患者が社会復帰するためには精神医学的な治療と周囲の理解が必須であるが、頭部外傷後の高次脳機能障害に関するデータで社会を説得するに足る正確なデータは世界的に見ても非常に乏しい。我々の研究成果に大きな期待が寄せられている。

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:

【対象】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24症例(平均年齢 41 ± 18 、男/女=19/5)を対象とした。21例は来院時 Glasgow Coma Scale score (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』症例である。**【方法】**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。

2. 長期植物状態からの意識回復に影響を及ぼす因子の解明:

当施設での上記24症例を詳細に解析して、来院時意識レベル、受傷時の年齢、急性期の頭蓋内圧の高低、CT上の脳損傷形態と、受傷後1年間の意識回復度合い(受傷後1年間のDRSの推移)との関係を検討した。

3. 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:

(A) 重症頭部外傷患者における脳血流量の経日的変化の検討

【対象】2000年から2001年に大阪大学医学部附属病院救命救急センターに収容された重症頭部外傷患者のうち、受傷後6週まで経日的にキセノンCT法による脳血流量測定が行われた14例。全例来院時のGCSが8点以下の重症頭部外傷患者で、男性11例、女性3例、平均年齢 36.3 ± 19.5 歳であった。

【方法】キセノンCT法による脳血流量測定を受傷後1, 2, 3, 4, 6週目に施行した。キセノンCT法による脳血流量測定が困難となる著しい呼吸傷害は全例認めなかった。健康成人男子11例(平均 36.3 ± 19.5 歳)から得られた脳血流量を正常値として用いた。

(B) 近赤外光トポグラフィーを用いた中枢神経損傷患者の評価に関する研究

【対象】重症頭部外傷患者(GCS \leq 8)6例で、5例は治療のために用いた鎮静剤終了後も意識障害が遷延し、1例は鎮静剤を使用していないにもかかわらず意識障害が遷延した。

【方法】全例に光トポグラフィー(日立メディコ社製 ETG-100)による手関節の他動的屈伸運動刺激に対する感覚運動野の局所脳血流反応の有無, MRI, 聴性脳幹反応検査(ABR)を施行した。

4. 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:

【対象】平成13年度以降の当院救命救急センター入院患者のうち、高次脳機能の変化が疑われた患者で、神経心理学的検査が可能であった重症頭部外傷患者(来院時 GCS が 8 点以下あるいは『Talk and Deteriorate』患者)24 例。

【方法】各患者に、全般的認知機能評価として MMSE、言語機能評価として SLTA、記憶評価として WMS-R、前頭葉機能評価として RCPM、WCST、go-no go test、行為の評価として信号動作、パントマイム、手指呼称を施行した。うち 10 例の患者で、受傷後半年毎に追跡検査を行うことができた。

5. 外傷後遅発性進行性脳萎縮 (delayed neuronal loss)の機序の解明:

【対象及び方法】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にエントリーした 34℃

群 45 例と 37℃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。さらに、delayed neuronal loss を呈していると我々が最初に報告した8例のうち、追跡調査の可能な症例では、follow up CT を撮影した。

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 ニューロトロフィン受容体 p75 による神経再生抑制機序の解明:

Myelin associated glycoprotein (MAG)は神経再生阻害因子の1つで、MAGの受容体はbinding partnerと機能的なシグナルを伝達する因子からなる。我々はニューロトロフィン受容体 p75 が MAG 受容体であることを見出した。今回の実験では、P75 ノックアウトマウスを用いてニューロトロフィン受容体 p75 の作用を検証した。また、P75 を発現する細胞としない細胞とで、MAG の Rho 活性化作用を比較した。

② ラット頭部外傷モデルにおける神経幹細胞の動向に関する研究:

頭部外傷モデルラットに BrdU を腹腔内投与し、損傷後の増殖細胞を経時的に解析した。また、側脳室に GFP ラベルしたアデノウイルスを注入し、側脳室周囲の細胞をラベルすることにより外傷後のその動向を解析した。

さらに、側脳室周囲において外傷後

急性～亜急性期に神経幹細胞の増殖、neurogenesis の抑制を制御するメカニズムを解明するため、cDNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現を解析した。

③ 脳虚血モデルにおけるアポ E 発現に関する研究:

脳虚血モデルとしてラット中大脳動脈閉塞モデルを使用し、中大脳動脈閉塞後 3 日目～7 日目にかけての脳梗塞部ならびに梗塞周囲部での Apo E mRNA の発現をマイクロオトラジオグラムを用いて調べた。

④ Src family kinase inhibitor PP1 による外傷性脊髄浮腫抑制効果に関する研究:

動脈瘤テンポラリークリップを用いて第 10 胸椎レベルで脊髄圧挫損傷モデルを作成した。損傷直後に PP1 並びに溶解液を腹腔内投与し、経時的に、損傷範囲の検討並びに、ラット抗 Ig-G 抗体による浮腫の広がり、抗 ED-1 抗体によるマクロファージの浸潤の程度を検討した。

⑤ 遺伝子治療(NF- κ B デコイ投与)による虚血性脊髄損傷の修復に関する研究:

大動脈遮断により脊髄虚血再灌流モデルを作成し、FITC 標識 NF- κ B デコイを遮断時に動脈内投与して虚血性損傷が抑制されるかどうかを検討した。

⑥ 二次的脳損傷におけるミクログリアの役割に関する研究:

Mouse 由来の培養ミクログリアを用い

てサイトカイン/ケモカインである LPS/IFN- γ 刺激に対するミクログリアの細胞反応をプロテアーゼである MMP-2, MMP-9, tPA, uPA, uPA receptor の mRNA 発現の変化にフォーカスをあてリアルタイム定量的 RT-PCR 法を用いて検討した。

C. 研究結果

臨床研究:

1. 長期植物状態からの回復時期の解明:

平成 14 年 3 月現在、24 症例で 1 年以上(最長 5 年 5 ヶ月)の予後追跡調査がなされており、意識回復の経過は①受傷から 3 ヶ月以内に急激な意識レベル改善を認める症例(10 例)、②受傷 4～12 ヶ月後にかけて徐々に意識レベルが改善する症例(6 例)、③植物状態がずっと遷延する症例(8 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 6 例(25%)であった。

24 例中 16 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 \pm 3.0 ヶ月であった。意識が回復した 16 例の中で、GOS で Moderate Disability 以上のレベルに改善したのは 3 例(19%)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。また、摂食に関する能力は意識回復と伴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非常に遅れることも判明した。

2. 長期植物状態からの意識回復に影響を及ぼす因子の解明:

来院時意識レベルと意識回復度合いとの関係を調べると、来院時 GCS score が 3 点 4 点の最重症例と 5 点以上の症例とでは、受傷後 1 年間の DRS の推移に明らかな違いが認められ、来院時 GCS score 5 点以上の症例の方が意識回復の度合いが良いことが判明した ($p < 0.05$)。

年齢と意識回復度合いとの関係を調べると、50 歳未満では 14 例中 11 例 (79%) で意識が回復したのに対して、50 歳以上では 10 例中 5 例 (50%) しか意識が回復せず、50 歳未満で意識回復の頻度が高い傾向を認めた ($P = 0.15$)。しかし、受傷後 1 年間の DRS の推移で比較すると、50 歳未満と 50 歳以上との間に有意差は認められなかった。

急性期の頭蓋内圧の高低と意識回復度合いとの関係を調べたが、受傷後 1 年間の DRS の推移に両群間で有意差は認められなかった。

CT 上の脳損傷形態と意識回復との関係に関しては、損傷形態に従って分類すると、各群が統計学的な検討を加えるのに十分な症例数に達しないため、有意な関係を見出すことができなかった。

3. 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:

(A) 重症頭部外傷患者における脳血流量の経日的変化の検討

重症頭部外傷患者では、急性期から慢性期にかけて正常例に比して全般的に脳血流量が低下していることが判明した。

受傷 6 週間後に機能予後良好

(GR, MD) となる症例では、受傷 1, 2 週間後の脳血流量は正常より低い、受傷 3 週間後に急激に増大して正常範囲内に到達し、その後再度減少して受傷 6 週間後には正常下限より低い値を示すこと ($p < 0.05$) が判明した。

受傷 6 週間後に機能予後不良 (SD, V) となる症例では、脳血流量は全経過を通じて正常例より低い値を示し ($p < 0.05$)、しかも急性期である受傷 1 週間後の脳血流量 (32 ± 12 ml/100g/min) よりも慢性期である受傷 4 週間後 (20 ± 7 ml/100g/min) 及び 6 週間後 (22 ± 8 ml/100g/min) の脳血流量の方が有意に低いことが判明した ($p < 0.05$)。

(B) 近赤外光トポグラフィーを用いた中枢神経損傷患者の評価に関する研究

全例、ABR は潜時の延長が見られる症例があるものの、5 波まで認められた。光トポグラフィーによる感覚運動野の局所脳血流反応を認めた 4 症例では経過中に各々 10 病日、24 病日、27 病日、180 病日に意識レベルは GCS 15 点となり、反応がなかった 2 症例では 1 例が植物状態のまま推移し、1 例が各々 36 病日に GCS 15 点となった。

4. 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:

受傷から 1 ヶ月以内に施行した初期評価では、24 例中 20 例 (83%) で何らかの高次脳機能障害 (特に記銘力障害) が生じていることが判明した。従って、少なくとも受傷 1 ヶ月後の時点では、重症頭部外傷患者の大多数で高次脳機能障害の生じていることが判明した。

回復過程に関していまだ明瞭な結果を抽出しうる例数ではないが、現時点では、脳損傷が局在し脳機能の障害領域が限局する症例では良好な予後が期待できることが示唆された。

5. 外傷後遅発性進行性脳萎縮 (delayed neuronal loss)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の症例(34℃群 45例と37℃群 46例)を追跡した結果、受傷後2年以上経過した現在も、どちらの群にも delayed neuronal loss は認められていない。したがって、Delayed neuronal loss の発生には、脳の温度を34℃に下げたことではなく、高い頭蓋内圧が強く関与していると考えられた。

また、delayed neuronal loss を示している3症例(受傷10年後、受傷5年半後、受傷4年半後)で、それぞれ follow up CT を撮影したが、やはり現在も delayed neuronal loss が緩徐に進行していることが確認された。

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 ニューロトロフィン受容体 p75 による神経再生抑制機序の解明:

MAG は大人の DRG neuron あるいは生後の小脳顆粒細胞の突起伸展を阻害するが、この効果は P75 ノックアウトマウスから得た神経細胞では見られなかった。また p75 を発現する細胞では MAG は Rho を活性化したが、p75 を発現しない細胞では Rho の活性化は見ら

れなかった。これらより MAG は p75 を介して、Rho を活性化することにより、神経突起の伸展を阻害していること示された。

また MAG binding と p75 の細胞膜表面での局在が一致しており、binding partner と p75 が関連していることが示唆された。さらにこの binding partner が グリコシド GT1b であることを見出し、GT1b と p75 が受容体複合として機能していることを証明した。

MAG の効果を阻害する方法として、p75 の細胞内ドメインに付着するペプチドを開発し、これが Rho の p75 への付着を防ぐことによりサイレンサーとして働いていることを見出した。

② ラット頭部外傷モデルにおける神経幹細胞の動向に関する研究:

頭部外傷モデルラットに BrdU を腹腔内投与したところ、両側側脳室周囲、外傷側海馬歯状回に損傷後4日目をピークとする細胞増殖が認められた。海馬における細胞増殖は片側性であり、外傷による直接の細胞増殖が考えられたが、側脳室周囲の細胞増殖は両側性であり、何らかの間接的刺激による神経幹細胞の増殖が示唆された。

側脳室に GFP ラベルしたアデノウイルスを注入し、その動向を解析した。コントロールラットにおいては GFP 陽性細胞が2週間後にニューロンとなり大脳皮質に移動しているのに対して、外傷ラットでは外傷2週間後まで GFP 陽性細胞の移動は認められなかった。外傷後の急性～亜急性期には、側脳室周囲の神経幹細胞からの neurogenesis は抑制

され、gliogenesis にも寄与していないことが示唆された。

細胞増殖がピークであった外傷 4 日目の外傷側側脳室周囲組織から mRNA を抽出し、cDNA マイクロアレイを用いて遺伝子発現を解析したところ、99 遺伝子の有為な発現上昇、207 遺伝子の有為な発現低下を認めた。発現上昇のみられた幾つかの遺伝子について現在解析中である。

③ 脳虚血モデルにおける Apo E 発現に関する研究:

中大脳動脈閉塞後 3 日目から 7 日目にかけて脳梗塞部ならびに梗塞周囲部に Apo E mRNA の発現を認め、Apo E mRNA 発現細胞が、神経膠細胞並びに浸潤マクロファージであることが確認された。神経細胞では Apo E mRNA の発現は認めなかった。Apo E のレセプターである LDLr、VLDLr、LRP の mRNA の発現は脳虚血により明らかな影響を受けなかった。

④ Src family kinase inhibitor PP1 による外傷性脊髄浮腫抑制効果に関する研究:

Src kinase inhibitor である PP1 は VEGF の下流に作用して浮腫形成を抑制し得ると報告されている。損傷後の VEGF の発現はいずれの群でも認められたが、両群間で明らかな差は認めなかった。一方、浮腫進展範囲の検討では、損傷 24 時間後、PP1 群では対照群と比べて、有意に縮小を認めた。またマクロファージの浸潤も、PP1 群においてより有意な浸潤の抑制を認めた。さらに

72 時間後での損傷範囲の検討でも損傷範囲が軽減されることを明らかにした。

⑤ 遺伝子治療(NF- κ B デコイ投与)による虚血性脊髄損傷の修復に関する研究:

NF- κ B は細胞内転写因子の一つであり、虚血再灌流障害時のサイトカイン誘導に寄与している。FITC 標識 NF- κ B デコイを遮断時に動脈内投与することにより NF- κ B デコイが脊髄血管内皮、脊髄神経細胞などに十分導入されることが確認された。さらに、デコイの作用により脊髄前角細胞の虚血性損傷の抑制、炎症性マクロファージの浸潤抑制に効果があることを明らかにした。

⑥ 二次的脳損傷におけるミクログリアの役割に関する研究:

tPA については、どの条件下においても tPA mRNA の発現は乏しく、コントロールとの間に有意差を認めなかった。uPA はミクログリアでは恒常的に発現していることが明らかとなった。しかし、LPS/IFN- γ 刺激ではむしろ uPA 発現は抑制された。一方、uPA receptor もミクログリアには恒常的に発現しているが、LPS/IFN- γ 刺激により、より一層の uPA receptor 発現量の上昇を認めた。MMP-2 mRNA の発現量に関しては、いずれの刺激に対しても有意な変化を認めなかった。MMP-9 は LPS/IFN- γ 刺激にて明かな発現量の上昇を認めた。

D. 考察

近年、蘇生技術や全身管理技術の向上はめざましく、今までは救命が困難であった重症頭部外傷患者を救命することが可能になった。しかしその反面、植物状態を含めた高度の意識障害患者が多数生み出されるようになった。重症頭部外傷の慢性期病態、特に植物状態を呈している患者の病態に関してはほとんど関心が寄せられず、打つ手がなくなれば諦め状態で放置され、今まで全くと言ってよいほど研究が進んでいない。頭部外傷患者の慢性期での長期臨床経過として現在もしばしば参考にされているのは、20年以上前のデータをを用いた次の2つの論文である。HIGASHI ら (J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1977) は植物状態を呈している重症脳損傷患者110例(頭部外傷・脳血管障害・蘇生後脳症・脳炎)の臨床経過を1973年～1976年の3年間観察し、1年以内に意識を回復したのは9例(8%)で、3年の内に71例(65%)が死亡したと報告している。Sazbon と Groswasser (J Neurosurg, 1990) は受傷後1ヶ月間昏睡状態に陥っている頭部外傷患者134例の臨床経過(1974～1983年)を retrospective に調査し、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している。どちらの報告も20年以上前の治療を受けた患者を対象としており、現在はその当時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、等の全ての面で格段の進歩を遂げている。したがって、現在の医療レベルでの植

物状態患者の長期自然経過は、これらの報告とはかなり違ったものになっているはずである。

我々はこの問題の重要性に気づき、植物状態で退院した患者の長期経過を5年前から prospective に追跡してきた。その結果、我々の研究結果の方が1年以内の死亡率が低いが、意識を回復する患者の割合は20年前と同程度であることが判明した。我々の研究の方が1年以内の死亡率が低いのは、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、我々の症例の場合、現時点では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。

つまり、植物状態を呈している頭部外傷患者の『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』は全く違うことが今回の研究から明らかになった。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も、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ことが必要となる。しかし、我々の1施設のみでは十分な症例数が得られないため、多施設での前向き研究を行う目的で平成13年11月30日に10都府県にわたる26の3次救急医療施設(12の大学附属病院と14の救命救急センター)が参加して第一回研究会を開催した。引き続き、平成14年2月よりprospectiveな長期予後追跡調査(約100症例/年)を開始した。この多施設研究によって長期植物状態からの自然回復過程を明らかにし、さらに①画像による脳損傷の評価、②脳波や聴性脳幹反応などの生理学的検査、③髄液の生化学的検査、を施行して、意識回復に影響を及ぼす因子について検討する予定である。

脳血流量の経日的変化と意識レベル回復との関係に関する研究では、重症頭部外傷患者での亜急性期から慢性期にかけての脳血流量の特徴的な変化をいくつか捕らえることができた。

まず、重症頭部外傷患者では、受傷後6週間にわたり、正常例に比べて全般的に脳血流量が低下している($p < 0.05$)ことが明らかとなった。不思議なことに、意識が十分に回復して、自分で食事、排泄、整容動作が可能になった患者でも、受傷6週間後に測定してみると、やはり正常例に比べて明らかに脳血流量が低いのである。脳血流量と意識レベルの間に見られる乖離の原因を明らかにするためには、高次脳神経機能も含めた脳機能全般との関係を追

及する必要がある、来年度以降の重要課題の一つである。

次に、受傷6週間後の生命予後で良好例と不良例に群分けして脳血流量の推移を比べると、両群の示すパターンに明らかな違いのあることが判明した($p < 0.05$)。つまり、受傷6週間後に機能予後良好(GR,MD)の症例では、受傷1,2週間後の脳血流量は正常より低いが、受傷3週間後に急激に増大して正常範囲内に到達し、その後再度減少して受傷6週間後には正常下限より低い値を示す。これに対して、受傷6週間後に機能予後不良(SD,V)の症例では、脳血流量は全経過を通じて正常例より低い値を示し($p < 0.05$)、しかも急性期である受傷1週間後の脳血流量よりも慢性期である受傷4週間後及び6週間後の脳血流量の方が有意に低い($p < 0.05$)ことが判明した。『なぜ、2つの群で経日的変化のパターンが全く違うのか?』、今のところ全くわかっていない。予後不良例の脳血流量の低下はび慢性であり、局所損傷による低下よりも、脳代謝の低下など脳全般にわたる障害が原因となっている可能性が強く示唆されるため、PETなどを用いてさらに深く研究を進める必要がある。

長期植物状態からの回復予知法に関する研究として、XeCTによる脳血流量測定以外にも、近赤外光トポグラフィを用いて脳血液量の変化を測定している。この研究では、植物状態を呈している重症頭部外傷患者の脳活動に伴う脳血液量の変化を光トポグラフィを用いて測定し、脳活動に伴う脳血液量の変化が回復の予知に有効か

否かを検討している。多種多様の刺激（他動的屈伸運動刺激、疼痛刺激、光刺激、音楽を聞かせる、味覚刺激、嗅覚刺激、等）について脳血流量の変化を検討したが、現時点では『他動的屈伸運動刺激に対する感覚運動野の局所脳血流反応』が植物状態からの意識回復予測に最も適していると考えられた。今後は計測症例数を増やすだけでなく、『植物状態からの意識回復予測の指標』を客観化(数値化)することによって、より早期かつ確実な予後診断の実現をめざすことを目標としている。

重症頭部外傷の急性期に対する治療法が発達して生命予後が改善するにつれて、慢性期における生活的・社会的予後が新たな問題となりつつある。なかでも、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障害が目立つ、いわゆる高次脳機能障害が注目を集めている。本研究では、外傷後の高次脳機能の評価を通して、その障害の実態と回復過程に関する調査を行った。

今回の研究結果から、少なくとも受傷1ヶ月後の時点では、重症頭部外傷患者の大多数(24例中20例で83%)で高次脳機能障害の生じていること、障害の種類としては言語性記憶障害が多いこと、損傷部位が限局しており初期評価時の高次脳機能障害が限局した障害であれば回復する可能性が高いこと、が判明した。この発生頻度は我々が予想していたよりもはるかに高く、さらに症例を重ねて高次脳機能障害の発生頻度、障害の程度、長期的な推移、頭部

外傷の重症度との関係などを明らかにすることが急務である。

基礎実験に関しては、次の3つの観点から研究を進めている。

- ① 神経再生阻害因子を抑制することによって中枢神経再生を試みる。
- ② 内在性の幹細胞を用いて神経再生を試みる。
- ③ 神経損傷の過程を抑制することにより2次的損傷を最小限にする。

①に関しては、我々はニューロトロフィン受容体 p75 が small GTPase である Rho を不活性化することで神経突起の伸展を阻害していることを報告した。今までの基礎研究では『神経再生を促進する』という観点に重点をおいていたが、ニューロトロフィン受容体 p75 による神経再生の抑制機序を解明する一連の研究は、『神経再生阻害因子を抑制することによって中枢神経再生を試みる』という新たな治療法の開発につながる極めて独創的な研究である。最近、myelin-associated glycoprotein の効果を阻害する方法として p75 の細胞内ドメインに付着するペプチドを開発し、これが Rho の p75 への付着を防ぐことによりサイレンサーとして働いていることを見出した。このペプチドは中枢神経再生を促進する薬剤として使える可能性があり、精力的に研究を進めている。

②に関しては、今回の研究で、まず機械的脳損傷モデルにおける神経幹細胞の動向を検討し、側脳室周囲の神経幹細胞は増殖することを確認した。ついで GFP ラベルしたアデノウイルスを用いた実験を行い、外傷後の急性～亜急

性期には側脳室周囲の神経幹細胞は gliosis にも neurogenesis にも寄与していないことが判明した。

頭部外傷モデルでは側脳室周囲の神経幹細胞の増殖と neurogenesis が、なぜ抑制されているのかは解明できていないが、これらのメカニズムを解明する目的で側脳室周囲における遺伝子発現を解析し、発現上昇・低下している遺伝子を多数発見できた。今後はこれを利用し、外傷後の神経幹細胞を増殖させ、分化を抑制している因子・メカニズムを解明していく予定である。

③に関しては、まず脳損傷部に集積するミクログリアの働きについて検討した。今回我々は、培養ミクログリア細胞を用いた研究で、ケモカイン/サイトカインである LPS/IFN- γ 刺激により、誘導型プロテアーゼである MMP-9 および組織線溶に関与するプロテアーゼである uPA の受容体 (uPA receptor) の発現が誘導されることを明らかにした。ところが、二次的脳損傷との関与が疑われていた MMP-2, tPA, uPA は LPS/IFN- γ 刺激では誘導されないことも明らかとなり、血管基底膜の破綻と脳浮腫発生の関連を再構築しているところである。次に、中枢神経系の主要なアポ蛋白であり脂質代謝に関与している Apo E の発現に注目し、脳梗塞部及び梗塞周辺部に発現する ApoE mRNA の産生細胞が神経膠細胞ならびに浸潤マクロファージであることを明らかにした。さらに、Src kinase inhibitor である PP1 が、脊髄損傷モデルにおいて損傷範囲の縮小効果を持つことを明らかにした。NF- κ B デコイを用いた実験は、まさに遺伝子レベ

ルで細胞応答反応を抑えようとするものであり、その効果は虚血に陥り蛋白合成能の低下した細胞にも作用し得ると考えられた。損傷を最小限に抑えると言う意味では極めて有用であると考えられるが、すべての NF- κ B に関連した情報伝達が抑制されると修復関連の応答反応も低下する危険性が危惧されるので、今後さらに研究を重ねる必要がある。

E. 結論

今年度の研究により、重症頭部外傷受傷後に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』は全く違うことが明らかになった。この pilot study の結果を基にして、10 都府県にわたる 26 の 3 次救急医療施設が参加して、平成 14 年 2 月より prospective な長期予後追跡調査(約 100 症例/年)を開始した。この多施設研究によって、長期植物状態からの自然回復過程を明らかにし、さらに意識回復に影響を及ぼす因子についても解明する予定である。

意識回復の予知に関する研究では、重症頭部外傷患者での亜急性期から慢性期にかけての脳血流量の特徴的な変化をいくつか捕らえることができた。脳血流量と意識レベルの間に見られる乖離の原因を明らかにするために、高次脳神経機能も含めた脳機能全般と脳血流量の推移との関係を追及する必要がある。また、植物状態を呈している患者の脳活動に伴う脳血液量の変化を光トポグラフィーを用いて測定してい

るが、『他動的屈伸運動刺激に対する感覚運動野の局所脳血流反応』が植物状態からの意識回復予測に最も適していると考えられた。

重症頭部外傷後の高次脳機能障害に関しては、今回の研究結果から少なくとも受傷1ヶ月後の時点では、重症頭部外傷患者の大多数(24例中20例で83%)で高次脳機能障害の生じていること、障害の種類としては言語性記憶障害が多いこと、損傷部位が限局しており初期評価時の高次脳機能障害が限局した障害であれば回復する可能性が高いこと、が判明した。

基礎実験に関しては、①神経再生阻害因子を抑制することによって中枢神経再生を試みる、②内在性の幹細胞を用いて神経再生を試みる、③神経損傷の過程を抑制することにより2次的損傷を最小限にする、の観点から精力的に研究を行った。①に関しては、ミエリン中に存在して神経再生阻害作用を持つ myelin-associated glycoprotein (MAG)の受容体が、binding partnerと機能的なシグナルを伝達する因子からなり、この機能的なシグナルを伝達する因子が neurotrophin receptor p75であることを発見した。また、MAGがp75を介して神経突起の進展を阻害していることを証明した。②に関しては、外傷後の急性～亜急性期にかけて側脳室周囲の神経幹細胞は増殖するが、gliosisにも neurogenesisにも寄与していないことを明らかにした。③に関しては、中枢神経系でのApoEのmRNA産生細胞が、神経膠細胞ならびに浸潤マクロファージであり、神経細胞にはApoE

mRNAの発現を認めないことを明らかにした。また、脊髄圧挫損傷モデルにおいて損傷直後に src family kinase inhibitor PP1 を腹腔内投与すると、24時間後の浮腫形成が抑制され、72時間後の損傷範囲も軽減することが判明した。さらに、脊髄虚血再灌流モデルにおいて、遮断時にFITC標識NF- κ Bデコイを動脈投与することによって、脊髄前角細胞の虚血性損傷の抑制や炎症性マクロファージの浸潤抑制に効果があることが判明した。

F. 研究発表

論文発表

(主任研究者)

1. Oda J, Kuwagata Y, Nakamori Y, Noborio M, Hayakata T, Fujimi S, Sugimoto H: Mild hypothermia alters the O₂ consumption/delivery ratio by decreasing the slope of the supply-dependent line. *Critical Care Medicine* (in press).
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* 2001, 18: 665-674.
3. Aoki M, Tamatani M, Taniguchi M, Yamaguchi A, Bando Y, Kasai K, Miyoshi Y, Nakamura Y, Vitek MP, Tohyama M, Tanaka H, and Sugimoto H: Hypothermic treatment restores glucose regulated protein 78 (GRP78) expression in ischemic brain. *Molecular Brain Research* 2001, 95: 117-128.
4. Fujimi S, Ogura H, Tanaka H, Koh T, Hosotubo H, Nakamori Y, Kuwagata Y, Shimazu T, and Sugimoto H: Activated

- polymorphonuclear leukocytes enhance production of leukocyte microparticles with increased adhesion molecules in patients with sepsis. *J Trauma* (in press).
5. Tanaka H, Nishimura T, Hakui M, Sugimoto H, Tanaka-Taya K, and Yamanishi K: Human herpesvirus 6-associated hemophagocytic syndrome in a healthy adult. *Emerging Infectious Diseases* (in press).
 6. Tanaka H, Nishino M, Nakamori Y, Ogura H, Ishikawa K, Shimazu T, Sugimoto H: Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) Stiffens Leukocytes but Attenuates Inflammatory Response without Lung Injury in Septic Patients. *J Trauma* 2001, 51: 1110-1116.
 7. Hashiguchi N, Ogura H, Tanaka H, Koh T, Nakamori Y, Noborio M, Shiozaki T, Nishino M, Kuwagata Y, Shimazu T, Sugimoto H: Enhanced Expression of Heat Shock Proteins in Activated Polymorphonuclear Leukocytes in Patients with Sepsis. *J Trauma* 2001, 51: 1104-1109.
 8. Hashiguchi N, Ogura H, Tanaka H, Shiozaki T, Shimazu T, and Sugimoto H: Enhanced expression of heat shock proteins in leukocytes from trauma patients. *J Trauma* 2001, 50: 102-107.
 9. Ogura H, Kawasaki T, Tanaka H, Koh Taichin, Tanaka R, Ozeki Y, Hosotsubo H, Kuwagata Y, Shimazu T, Sugimoto H: Activated platelets enhance microparticle formation and platelet-leukocyte interaction in severe trauma and sepsis. *J Trauma* 2001, 50: 801-807.
 10. Hosotsubo H, Takahara S, Kokado Y, Permpongkosol S, Wang JD, Tanaka T, Matsumiya K, Kitamura M, Okuyama A, and Sugimoto H: Rapid and simple determination of mycophenolic acid in human plasma by ion-pair RP-LC with fluorescence detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2001, 24: 555-560.
 11. Hosotsubo H, Takahara S, Kokado Y, Permpongkosol S, Wang JD, Tanaka T, Matsumiya K, Kitamura M, Okuyama A, and Sugimoto H: Rapid and simultaneous determination of mycophenolic acid and its glucuronide conjugate in human plasma by ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography using isocratic elution. *Journal of Chromatography B* 2001, 753: 315-329.
 12. Ueda T, Hida S, Tanaka H, Kumagai Y, Kudo T, Shimazu T, Sugimoto H: Telemedical support using real-time ultrasonography and endoscopy images. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 2001, 66: 55-61.
- (分担研究者)
1. Yamaguchi A, Taniguchi M, Hori O, Ogawa S, Tojo N, Matsuoka N, Miyake S, Kasai K, Sugimoto H, Tamatani M, Yamashita T, and Tohyama M: Peg3/Pw1 is involved in p53-mediated cell death pathway in brain ischemia/hypoxia. *J. Biol. Chem.* 2002, 277: 623-629.
 2. Neumann, H, Schweigreiter, R, Yamashita, T, Rosenkrantz, K, Wekerle, H, and Barde, Y-A: Tumor necrosis factor inhibits neurite outgrowth and branching of hippocampal neurons BY A Rho-dependent mechanism. *J. Neurosci.* 2002, 22: 854-862.
 3. Sakata K., Yamashita T, Maeda M., Moriyama Y., Shimada S. and Tohyama M.: Cloning of a lymphatic peptide / histidine transporter. *Biochem. J* 2001: 356, 53-60.

4. Tanabe K, Tachibana T, Yamashita T, Che YH, Yoneda Y, Ochi T, Tohyama M, Yoshikawa H, and Kiyama H: The small GTP-binding protein TC10 promotes nerve elongation in neuronal cells, and its expression is induced during nerve regeneration in rats. *J. Neurosci.* 2000; 20, 4138-4144.
5. Taniguchi, M., Yamashita, T., Kumura, E., Tamatani, M., Kobayashi, A., Yokawa, T., Maruno, M., Kato, A., Ohnishi, T., Kohmura, E., Tohyama, M., and Yoshimine, T.: Induction of aquaporin-4 water channel mRNA after focal cerebral ischemia in rat. *Mol. Brain Res* 2000, 78: 131-137.
6. Kataoka K, Nakamura H, Asai T, Iwasaki H, Taneda M: Expression of mRNA of uPA, tPA, MMP-2, and MMP-9 in microglia cell cultures and brain stab wounds. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001, 21 (Suppl 1):s 75-s75.
7. Asai T, Kataoka K, Nakamura H, Iwasaki H, Taneda M: Neuroprotective mechanisms of hypothermia due to suppressed expression of iNOS and COX2 mRNA in activated microglia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001, 21 (Suppl 1): s76-s76.
8. Kawabata A, Kuroda R, Morimoto N, Kawao N, Masuko T, Kakehi K, Kataoka K, Taneda M, Nishikawa H, Araki H: Lipopolysaccharide-induced subsensitivity of protease-activated receptor-2 in the mouse salivary glands in vivo. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2001, 364: 281-284.
9. Kitano M, Taneda M: Extended transsphenoidal approach with submucosal posterior ethmoidectomy for parasellar tumors. Technical note. *J Neurosurg* 2001, 94: 999-1004.
10. Kobashi S, Hata Y, Kitamura Y, Hayakata T and Yanagida T: Brain State Recognition Using Fuzzy C-Means (FCM) Clustering with Near Infrared Spectroscopy (NIRS). *Computational Intelligence Lecture Notes in Computer Science* 2001, 2206: 124-136.
11. Hata Y, Kobashi S, Kamiura N, Kitamura Y and Yanagida T: On an Architecture of Medical Image Registration System Based on Multiple-Valued Logic. *IEEE Computer Society, 30th International symposium on Multiple-Valued Logic Proceedings* 2001: 273-278
12. Hirata M, Kato A, Taniguchi M, Ninomiya H, Cheyne D, Robinson SE, Maruno M, Kumura E, Ishii R, Hirabuki N, Nakamura H, Yoshimine T: Frequency-dependent spatial distribution of somatosensory evoked neuromagnetic fields. *Neurosci Lett* (in press)
13. Kubo S, Wakayama A, Baba K, Sakaguchi T, Oshino S, and Yoshimine T: Combined transfrontal and endoscopic surgery of epidural abscess following frontal sinusitis. *Neurol Res* (in press)
14. Saitoh Y, Hirano S, Kato A, Kishima H, Hirata M, Yamamoto K, Yoshimine T: Motor cortex stimulation for deafferentation pain. *Neurosurgical Focus* 2001, 11: 1-5.
15. Ueno T, Sawa Y, Kitagawa-Sakakida S, Nishimura M, Morishita R, Kaneda Y, Kohmura E, Yoshimine T, Matsuda H: Nuclear factor-kB decoy attenuates neuronal damage after global brain ischemia: A future strategy for brain protection during circulatory arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001, 122:720-727.

16. Sato M, Iwatsuki K, Akiyama C, Kumura E, Yoshimine T: Implantation of reservoir for refractory chronic subdural hematoma. *Neurosurg* 2001, 48: 1297-1301.
17. Ikenaka K, Sasaki M, Tamura K, Tamura M, Miyao Y, Nanmoku K, Kawano Y, Nakahira K, Yoshimine T, Shimizu K: Treatment of glioblastoma by direct inoculation of concentrated high titer-recombinant retrovirus carrying the Herpes Simplex virus thymidine kinase gene. *Human Cell* 2001, 14: 49-58.
18. Jamshid J, Izumoto S, Yoshimine T, Maruno M: Central neurocytoma presenting with intratumoral hemorrhage. Case Report. *Neurosurg Rev* 2001, 24: 48-52.
19. Saitoh Y, Yamamoto K, Yoshimine T: Surgeon's position for transsphenoidal surgery. Technical note. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2001, 41: 30-332.
20. Mizuno-Matsumoto Y, Yoshimine T, Nii Y, Kato A, Taniguchi M, Lee JK, Ko TS, Date S, Tamura S, Shimojo S, Shinosaki K, Inouye T, Takeda M: Landau-Kleffner syndrome: localization of epileptogenic foci using wavelet-crosscorrelation analysis. *Epilepsy Behavior* 2001, 2: 288-294.
21. Sasaki M, Nakahira K, Kawano Y, Katakura H, Yoshimine T, Shimizu K, Kim SU, Ikenaka K: MAGE-E1, a new member of the melanoma-associated antigen gene family and its expression in human glioma. *Cancer Res* 2001, 61: 4809-4814.
22. Kubo S, Nakata H, Yoshimine T: Peritoneal shunt tube placement using an endoscopic threaded imaging port. Technical note. *J Neurosurg* 2001, 94: 677-679.
23. Izumoto S, Ohnishi T, Kanemura H, Arita N, Maruno M, Moriuchi S, Suzuki T, Yoshimine T: PTEN mutations in malignant gliomas and their relation with meningeal gliomatosis. *J Neuro-Oncol* 2001, 53: 21-26.
24. Kawano Y, Sasaki M, Nakahira K, Yoshimine T, Shimizu K, Wada H, Ikenaka K: Structural characterization and chromosomal localization of the MAGE-E1 gene. *Gene* 2001, 277: 129-137.
25. Nishio M, Kohmura E, Yuguchi T, Fujinaka T, Nonaka M, Akiyama C, Yoshimine T: Expression of heat shock protein-70 mRNA following transient spinal cord ischemia in rat. *Neurotrauma Res* 2001, 12: 52-56.
26. Shinosaki K, Nishikawa T, and Takeda M. Psychiatric study on behavioral and psychological symptoms of dementia. *Int J Geriatr Psychopharmacol* (in press).
27. Takeda M, Nishikawa T, Shinosaki K, Kudo T, Tanaka T, Nakamura Y, and Kashiwagi Y. Presenilin function and neuronal degeneration. In *Frontiers of the Mechanisms of Memory and Dementia* (Kato Y, ed), Excerpta Medica (in press).
28. Takeda M, Kudo T, Tanaka T, Nakamura Y, Nishikawa T, and Shinosaki K. Presenilin and ER stress in Alzheimer pathology. In *Advance in Dementia Research* (Tanaka C, ed), Elsevier (in press).
29. Tsujio I, Tanaka T, Kudo T, Nishikawa T, Shinosaki K, Grudke-Iqbal I, Iqbal J, and Takeda M. On activation and phosphorylation of GSK3 by protein kinase C in inhibition of protein kinase B. *FEBS Lett* (in press).
30. Takeda M, Nishikawa T, Tanaka T, and Shinosaki K. Regulation of tau phosphorylation in neurodegeneration of Alzheimer's disease. *Alzheimer Dis. Associat. Disorders* (in press).

31. Nishikawa T, Okuda J, Mizuta I, Ohno K, Jamshidi J, Tokunaga H, Ikejiri Y, Nakagawa Y, Yoshimine T, Tanabe H, Takeda M: Conflict of intentions due to callosal disconnection. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 2001, 71: 462-471.
32. Mizuno-Matsumoto Y, Ishijima M, Shinosaki K, Nishikawa T, Ukai S, Ikejiri Y, Nakagawa Y, Ishii R, Tokunaga H, Tamura S, Date S, Inoue T, Shimojo S, Takeda M: Transient global amnesia (TGA) in an MEG study. *Brain Topography* 2001, 13: 269-274.

学会発表

1. 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急性期から慢性期にかけての脳血流動態の解析』第25回日本神経外傷学会(2002年3月23日東京)。
2. 吉矢 和久、塩崎 忠彦、田中 裕、島津 岳士、杉本 壽:『頭部外傷ラットにおける神経幹細胞の動向と神経再生への応用』第29回日本救急医学会総会(2001年東京)。
3. 山下俊英、遠山正彌: 神経の発生と再生、新適塾千里神経懇話会、大阪、2001。
4. 山下俊英、遠山正彌: ニューロトロフィン受容体のシグナル伝達、滋賀医科大学シンポジウム、滋賀、2001。
5. Syoji Kobashi, Tomokazu Takae, Yuri T. Kitamura, Yutaka Hata and Toshio Yanagida (2001) Fuzzy Medical Image Processing for Segmenting the Lateral Ventricles from MR-Images.

ICIP(ギリシャ)

6. Syoji Kobashi, Yutaka Hata, Yuri T. Kitamura, Toshiaki Hayakata and Toshio Yanagida (2001) Brain State Recognition Using Fuzzy C-Means (FCM) Clustering with Near Infrared Spectroscopy (NIRS). International Conference on Computational Intelligence, 7th Fuzzy Days(ドルトムント, 独)
7. Yuri T. Kitamura, Syoji Kobashi, Yutaka Hata and Toshio Yanagida (2001) Dynamic brain activation during improvement in a sequential motor performance: an NIRS/I study. 31st Annual Meeting of Society for Neuroscience (サンディエゴ, 米)
8. Yuri T. Kitamura, Mika Otsuki, Syoji Kobashi, Yutaka Hata, Hiroaki Naritomi and Toshio Yanagida (2001) Dynamic brain activation during improvement in a sequential motor performance: an NIRS/I study. 7th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (ブライトン, 英)
9. Syoji Kobashi, Yuri T. Kitamura, Mika Otsuki, Yutaka Hata, Hioaki Naritomi and Toshio Yanagida (2001) Time Series Analysis in Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) Aided by Fuzzy C-Means (FCM) and Wavelet Transforms. 7th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (ブライトン, 英)
10. 松本綱紀, 小橋昌司, 畑豊, 喜多村