

20020916

厚生労働科学研究研究費補助金

こころの健康科学研究事業

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 14 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 杉本 壽

平成 15 (2003) 年 3 月

**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

基礎研究では

- 5.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 15 年3月現在、24 症例で2年以上の予後追跡調査(全例 2 年以上、最長 6 年 5 ヶ月)がなされている。意識回復の経過は(i)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)、(ii)受傷5~12ヶ月後にかけて緩徐に意識レベルが改善する症例(6例)、(iii)植物状態が遷延する症例(8 例)の 3 通りに分かれ、24 例中 16 例(67%)が意識を回復した。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。現時点では受傷後 1 年以上経過してから意識を回復した症例はない。6 例(25%)が感染症で死亡したが、受傷から1年以内の死亡は1例(4%)のみであった。

この長期予後追跡調査を継続していく過程で、今年度は次に示す3つの新しい知見を得た。

- ①2人の患者が社会復帰を果たした。
- ②受傷後3年以上が経過しているにもかかわらず、4人の患者が突然意味のある言葉を話すことが可能になった。
- ③意識の回復した患者では、上肢に比べて下肢の運動機能が非常に障害されていた。

これらの結果は、急性期治療が終了した時点で植物状態を呈していても、諦めずに治療を継続すれば中枢神経機能が回復する可能性が十分にあることを明確に示している。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を開始し、現在症例を積み重ねているところである。

**(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2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2年間の意識回復の度合い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( $p < 0.05$ )。受傷時の年齢と意識回復度合いとの関係を調べると、受傷後1年を経過した頃から50歳未満のグループの方が50歳以上のグループに比べて意識回復の度合いが良くなる傾向を認めた( $p = 0.13$ )。しかし、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。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、意識回復に影響を及ぼす因子について詳細に検討する目的で平成14年2月から多施設研究を開始した。

### (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

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15年3月の時点で20例の測定が終了した。重症頭部外傷患者では、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、その後再度減少して正常下限より低い値を示すことが判明した。受傷後3週目に脳血流量が正常範囲に回復した群(A群)と正常以下の群(B群)に分けて脳血流量の変化を比較すると、A群では受傷後2週間で既に脳血流量が増加していたが、B群では全経過を通じて正常より低い値を示した。A群はB群に比べて受傷3ヶ月後の生命機能予後が有意に良好であった( $p<0.05$ )。

また、平成15年3月現在、9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を用いてベッドサイドで計測することに成功した。その結果、急性期に両側で局所脳血流の反応性増加が認められる症例は、長期的には回復する可能性が極めて高いことが示唆され、植物状態の予後診断法として光トポグラフィ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、神経心理学的検査施行が可能なレベルにまで回復した症例では、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15年3月現在、31例で受傷1ヶ月以内の初期評価を終了している。31例中26例(84%)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の生じていることが判明した。この発生頻度は我々が予想していたよりも遥かに高い。上記31症例のうち、14例で施行できた追跡調査(6ヶ月~2年)の結果、左半球前半部の損傷が回復困難な言語性記憶障害と関連していることが示唆された。

### (5)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、ニューロトロフィン受容体 p75 が、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) の受容体であることを P75 ノックアウトマウスを用いて見出し、MAG による Rho の活性化により神経突起の伸展を抑制していることを示した。さらにこのシグナルを阻害するペプチドの開発に成功した。また、軸索誘導に関与する新規の遺伝子(FIRと命名)を単離することに成功し、FIR が海馬神経細胞の突起伸展を抑制していることを明らかにした。
- ② ラット頭部外傷モデルにおいて、外傷後の側脳室周囲において97遺伝子の発現上昇と204遺伝子の発現低下を認めた。この中の9遺伝子(calmodulin 2, gelsolin, 等)について、RT-PCRによる遺伝子発現の上昇を側脳室周囲で確認した。さらに、その中の5遺伝子については in situ hybridization により発現の局在を確認した。現在、発現上昇の確認できた遺伝子について、神経幹細胞での機能の解析、生体内での機能の解析を行っている。
- ③ VEGF による血管透過性の亢進が脊髄損傷部周囲の浮腫を形成する要因となっていて、src family kinase inhibitor である PP1 は VEGF の下流に作用して浮腫形成を抑制すると考えられている。脊髄圧挫損傷モデルにおいて損傷直後に PP1 を腹腔内投与すると、浮腫形成が抑制されて脊髄損傷範囲は有意に縮小し、組織中 IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , ICAM-1, COX-2 の mRNA 発現量の低下が認められた。また、損傷した神経細胞・軸索の再生治療の試みとして、adult ラットの骨髄間質細胞を神経幹細胞の供給源として培養・分離することに成功した。
- ④ 脳損傷病態下においても、protease は細胞外腔で proteolysis によって病態を悪化させているだけではなく、濃度によっては protease 受容体を介した反応によって脳保護に働かせる可能性もあることが示唆された。

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  
田崎 修 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。

平成 12 年度人口動態統計によれば、1～24 歳の死亡原因第 1 位は不慮の事故であり、25～39 歳でも不慮の事故が死亡原因の第 2 位或いは第 3 位となっている。不慮の事故による死亡の約半数が頭部外傷によるものであることを考えると、頭部外傷によって生産労働人口の多大な損失が引き起こされている

ことがわかる。しかも、たとえ救命に成功したとし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。

重症頭部外傷の急性期治療を終了した時点(受傷後 1 ヶ月)で植物状態である患者の長期的な予後を厳密に前方視的(prospective)に調査した研究報告は皆無である。このため重症頭部外傷患者の家族に、急性期診療施設から慢性期診療施設に転院する際(受傷後 1 ヶ月頃)に、患者の長期的な回復の可能性を明確な根拠に基づいて説明することができないのが実情である。重症頭部外傷の診療実務においてはこの問題は極めて重要である。なぜなら回復の可能性が明らかになれば、患者家族は希望を持って介護に当ることができ、また慢性期診療を担当する施設でもより積極的な診療に励むからである。実際、我々が予備的に行った後方視的(retrospective)な追跡調査では、慢性期診療施設に転院後の短期間に多くの患者が気道閉塞や肺炎、褥創・尿路感染などの合併症で死亡していることが分かった。これらはいずれも基本的な診療技術によって、予防あるいは重症化を避け得るものである。回復の可能性に対する家族や慢性期診療施設における漠然とした諦めがこの結果に大きく影響していると考えられる。回復の

可能性を前提とした(すなわち、慢性期の合併症死を最小限に留めた) prospective studyを行い、実態を明らかにすることがまず大切である。

我々はこの問題の重要性に気づき、当施設で受傷1ヶ月後に植物状態を呈していた重症頭部外傷患者の長期予後追跡調査を6年前から pilot study として prospective に施行してきた。その結果、平成 12、13 年度の研究(こころの科学研究事業)で 67%(24 例中 16 例)もの高頻度で意識を回復することが判明した。これは、急性期診療が終了した時点で植物状態であっても約 2/3 の患者が意識を回復する可能性があることを意味しており、我々の予測よりもはるかに高い頻度である。この pilot study の結果を踏まえて平成 14 年 2 月より多施設での長期予後追跡調査を開始した。

## B. 研究方法

臨床研究:

### 1. 長期植物状態からの回復過程の解明:

【対象】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 24 症例(平均年齢 41±18、男/女=19/5)である。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』患者である。

【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2年間の意識回復度合い(受傷後2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】平成 12 年9月から平成 14 年 9 月までの2年間に大阪大学医学部附属病院高度救命救急センターに搬送された頭部外傷患者のうち、来院時 GCS (Glasgow Coma Scale)8 点以下の重症頭部外傷患者と、来院時の意識レベルは GCS で9点以上であったが急激に意識レベルの低下をきたした talk & deteriorate 患者を対象とした。これらの

患者から①10歳未満或いは65歳以上の患者、②他部位にAIS (Abbreviated Injury Score) 4以上の損傷を合併する症例、③頭蓋内圧を制御することができずに脳死状態に陥った症例を除外し、残った20例を対象とした。男性14例、女性6例、平均年齢34±17歳であった。

【方法】キセノンCT法による脳血流測定を受傷後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14例(平均32±6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

【対象および方法】重症頭部外傷患者9例に対して光トポグラフィー(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)31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、急性期を脱して検査可能となった時点(受傷後約1週間~1ヶ月)で施行した。うち14例の患者で、受傷後半年毎に追跡調査を行うことができた。

基礎研究:

#### 5. 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 中枢神経再生のメカニズムの研究:

(a) MAG受容体の同定

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、MAG受容体の同定を行った。

(b) ニューロトロフィン受容体p75のシグナル伝達

突起伸展を促進するニューロトロフィンと逆の作用を持つMAGが同一の受容体p75に結合するにもかかわらず、作用発現は逆であるという現象は、p75の幅広いシグナルを反映している。今回の実験では、この現象を解明するためにp75のシグナル伝達の質に関する決定機構の解明を試みた。

(c) 軸索伸展阻害に関与する新規因子FIR

軸索誘導に関与する新規の遺伝子FIRを単離し、その機能解析をおこなった。

(d) 軸索伸展阻害物質に対する耐性機構

幼弱神経細胞の軸索は容易に再生し、軸索伸展阻害因子に不応性である。このメカニズムの解明を試みた。

## 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結果、両側側脳室周囲に損傷後 4 日目をピークとする神経幹細胞の増殖が認められることを昨年度の研究で報告した。さらに、外傷後の側脳室周囲の遺伝子発現を cDNA マイクロアレイ法を用いて検討し、側脳室周囲に 97 遺伝子の発現上昇と 204 遺伝子の発現低下を認めた。

今年度は、cDNA マイクロアレイ法で profiling した遺伝子について、RT-PCR による発現上昇の確認と、in situ hybridization による側脳室周囲での発現局在の確認を行った。さらに、発現上昇の確認できた遺伝子について、神経幹細胞での機能解析、生体内での機能の解析を検討した。

## ③ 中枢神経損傷後の細胞応答反応とその修飾の研究

### (a) 脊髄外傷モデルを用いた Src family kinase inhibitor PP1 投与による外傷性脊髄損傷抑制効果の検討

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。さらに、経時的に下肢機能の評価と組織学的検討、組織中の炎症関連因子(IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , ICAM-1, COX-2)の mRNA 定量を行った。

### (b) 骨髄細胞の動脈内投与による脳損傷部位の神経再生の検討

adult ラット骨髄間質細胞をとりだして培養系の確立を行った。

次に、分化させた培養細胞を脳損傷モデルに動脈内投与し、脳損傷部位での生着・分化の程度を検討した。

## ④ 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:

マウス由来の microglia 細胞、astroglia 細胞を分離しそれぞれの培養系を確立した。また、ヒト由来のグリア系腫瘍細胞(U-251 MG; GI-1; GB-1; YH-13; T98G)の培養系を確立した。これらの培養細胞に cytokine 刺激 ( TNF $\alpha$  , INF $\gamma$  , IL-1 $\beta$  ) , chemokine(LPS)刺激を行い培養液中の protease ( thrombin, prothrombin, trypsin など)について Zymography, immunoblotting にて検討した。

## C. 研究結果

### 臨床研究:

#### 1. 長期植物状態からの回復過程の解明:

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 24 例の意識回復過程を追跡調査した(全例2年以上、最長 6 年 3 ヶ月)。16 例(67%)が平均 4.1  $\pm$  3.0 ヶ月で意識を回復した。現時点で

は受傷後 1 年以上経過してから意識を回復した症例はない。6例(25%)が感染症で死亡したが、受傷から1年以内の死亡は1例(4%)のみであった。

この長期予後追跡調査の過程で、今回は次に示す3つの新しい知見を得ることができた。

- ① 2人の患者が社会復帰を果たした。
- ② 受傷後3年以上が経過しているにもかかわらず、4人の患者が突然意味のある言葉を話すことができるようになった。
- ③ 意識の回復した患者では、上肢に比べて下肢の運動機能が非常に障害されていることが判明した。

これらの結果は、急性期治療が終了した時点で植物状態を呈しているも、諦めずに治療を継続すれば中枢神経機能が回復する可能性が十分にあることを明確に示している。

認知能力に関しては、意識の回復した16例で経時的な改善を調べた。摂食に関する能力は意識回復と共に徐々に回復し、受傷後 2 年の時点で 88% (16 例中14例)の患者が『介助すれば何とか経口摂取が可能なレベル』にまで達していることが判明した。しかし、排泄及び整容動作に関する能力は回復が非常に遅れ、受傷後 2 年経過した時点でも 56% (16 例中9例)の患者が排泄及び整容に関する動作を全く行うことができないことが判明した。

## 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2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 ( $p < 0.05$ )。

受傷時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 ( $P=0.15$ )。また、受傷後2年間の DRS の推移を比較すると、受傷後 1 年を経過した頃から50歳未満のグループの方が50歳以上のグループに比べて DRS が低い(つまり障害度が低い)ように見受けられた。しかし、統計学的見地からは  $P=0.13$  (by two way ANOVA with repeated measurement) であり、有意差を得るには至らなかった。

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2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、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、その後再度減少して正常下限より低いことが判明した。受傷後3週目に脳血流量が正常範囲に回復した群(A群)と正常以下の群(B群)に分けて脳血流量の変化を比較した。A群では受傷後2週間で既に脳血流量が増加していたが、B群では全経過を通じて正常より低い値を示した。A群はB群に比べて受傷3ヶ月後の生命機能予後が有意に良好であった( $p < 0.05$ )。

#### **(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**

平成15年3月現在、9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ヘッドサイトで計測することに成功した。他動的関節屈伸運動刺激に対する感覚運動野の局所脳血流反応を両側で認めた4症例では経過中に各々10、24、27、180病日に植物状態から脱却し、反応がなかった5症例では3例が半年以上植物状態のまま推移し、残りの2例がそれぞれ33、36病日に植物状態から脱却した。すなわち急性期に両側で局所脳血流の反応性増加が認められる症例は、長期的には回復する可能性が極めて高いことが示唆され、光トポグラフィーが個々の患者の回復予知法として期待できることが示された。

#### **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:**

神経心理学的検査施行が可能なレ

ベルにまで意識が回復した症例でも、少なくとも受傷1ヶ月後の時点では84% (31例中26例)もの高頻度で高次脳機能障害(特に記憶力障害)の生じていることが判明した。この発生頻度は我々が予想していたよりも遥かに高かった。最も多い脳機能障害は言語性記憶障害で、31例中22例に認められた。

回復過程に関して、左半球前半部の損傷が回復しがたい言語性記憶障害と関連していることが示唆された。

基礎研究:

#### **5. 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 中枢神経再生のメカニズムの研究:**

##### **(a) MAG受容体の同定**

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がグリオシド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。

##### **(b) ニューロトロフィン受容体p75のシグナル伝達**

ニューロトロフィンで活性化された p75 は cAMP-PKA を活性化し、更に自身をリン酸化することによって、シグナル伝達の場合であるラフトに移動し、シグナル伝達の質を変えていることを見出した。

**(c) 軸索伸展阻害に関与する新規因子 FIR**

末梢神経の再生時、シュワン細胞で発現上昇してくる新規の遺伝子を単離した。これは新規の Rac に特異的な Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) であり、ERM ドメインを有していた。受容体からのシグナルによりその機能が制御されていることが示唆された。FIR と名付けたこの Rac GEF を胎生期の海馬ニューロンに発現させると、神経軸索の伸長が抑制され、神経軸索の誘導因子として機能していることを示した。

**(d) 軸索伸展阻害物質に対する耐性機構**

幼弱神経細胞に特異的に発現している遺伝子の探索を行い、cyclin dependent kinase inhibitor である p21(Cipl/WAF1) を捉えた。この因子は通常は核に発現し細胞分化に関わっているが、分化後は細胞質に移動し、Rho kinase を直接不活性化し突起伸展作用をもたらすことが明らかになった。Rho の下流でその経路を阻害することにより、Rho を活性化する刺激に対して不応性になることが判明した。

**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:**

昨年度も報告したとおり、外傷後の側脳室周囲において 97 遺伝子の発現上昇と 204 遺伝子の発現低下を認めた。

これらの中からピックアップした遺伝子のうち、calmodulin 2、gelsolin、MARCKS-like protein、cornichon-like protein、metallothionein 3、Bak protein、PSD-95、neurochondrin、nasal embryonic LH-RH factor の 9 遺伝子について、RT-PCR による遺伝子発現の上昇を確認した。更に、calmodulin 2、gelsolin、MARCKS-like protein、metallothionein 3 については、in situ hybridization により側脳室周囲での発現の局在を確認した。現在、発現の確認できた遺伝子について、TAT protein、或いはレトロウイルスを用いることにより、神経幹細胞へ遺伝子導入し、in vitro、in vivo における機能解析を行っているところである。

**③ 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:**

脊髄損傷部や損傷部周辺領域で VEGF の発現が亢進しており、VEGF による血管透過性の亢進が浮腫を形成する要因であることが知られている。Src kinase inhibitor である PP1 は VEGF の下流に作用して浮腫形成を抑制すると考えられており、実験的脊髄損傷後においても、損傷範囲や浮腫の範囲を抑制することを昨年度報告した。

本年度は、実験的脊髄損傷後に PP1 を腹腔内投与し、経時的に下肢機能の評価と組織学的検討、組織中の炎症関連因子の mRNA 定量を行った。

PP1 投与群では、浮腫範囲が縮小し、マクロファージの浸潤が抑制され、脊髄損傷範囲は有意に縮小した。また、PP1

投与群では、組織中の  $IL-1\beta$ 、 $TNF\alpha$ 、 $ICAM-1$ 、 $COX-2$  の mRNA 発現量の低下を認めた。神経機能に関して、PP1 投与群では、溶解液投与群に比し、下肢機能は有意に良好な改善を認めた。

#### ④ 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:

Microglia 培養細胞では Protease 受容体の発現はとぼしく、cytokine 刺激にても Protease 受容体の発現上昇をほとんど認めなかった。しかし、Astroglia 細胞培養、グリア系腫瘍細胞群では Protease 受容体の発現を認め、cytokine 刺激にても Protease 受容体の発現上昇を認める可能性が明らかとなった。

#### D. 考察

今年度の研究結果から、重症頭部外傷受傷から 1 年以上経過しても年単位で緩徐に回復する中枢神経機能も存在することが明らかになった。特に、①『急性期診療(受傷後 1 ヶ月)が終了した時点で植物状態を呈しているも 24 例中 2 例(8%)が社会復帰した』、②『受傷後 3 年が経過した時点で意味のある発語ができなかった 9 症例のうち、4 例(44%)もの患者がその後に意味のある言葉を話すことができるようになった』という事実は、予想を覆す大変意外な驚くべきものである。一般には、頭部外傷受傷から 1 年以上経過しても回復しない中枢神経機能は回復の見込みが無い(回復する可能性はゼロではないが実際には無いに等しい)と考えられてき

た。受傷後半年から 1 年で頭部外傷後の後遺症診断(症状固定)がなされるのも、この考えに基づいている。しかし、この考え方が間違っていることが今回の研究結果から明らかになった。受傷後 3 年以上経過してから突然意味のある発語が可能になるなどということは、今までの医学的常識からは考えられないことであり、中枢神経の可塑性に関して我々が信じている医学的常識を覆す可能性が高い。つまり、損傷した中枢神経が全く回復しないというのは間違いで、『中枢神経は可塑性に乏しいために一度損傷を受けると回復が困難である』という既成概念に囚われて、誰も真剣に prospective な長期追跡調査を行わなかったために、年単位の緩徐な回復過程をただ単に見逃していただけである可能性が高いと考えられる。年単位の緩徐な回復は発語に関するものだけではなく、排泄動作に関しても今回の分担研究で確認できている。年単位での長期的な中枢神経の可塑性に関しては全く解明されておらず、今後重点的に解明すべき臨床研究課題の一つである。

『長期植物状態からの回復過程』に関する研究結果は、『急性期治療が終了した時点で植物状態を呈しているも、諦めずに治療を継続すれば中枢神経機能が回復する可能性が十分にある』ことを明確に示している。長期予後追跡調査のデータが蓄積されるにしたがって次々と新しい知見が明らかになってきており、今後は意識回復の可能性があることを前提として、慢性期診療施設でも積極的に治療・介護することが肝要であると考えられる。さらに、下肢に対

するリハビリテーションを早期から積極的に開始する必要性が確認できたことは、慢性期治療に一つの方向性を示すものと考えられる。

平成14年2月に、長期間植物状態を呈している重症頭部外傷患者の自然回復過程を明らかにする目的で、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)が参加して多施設臨床研究が開始された。しかし、エントリー開始から1年経過した平成15年3月の時点で未だ15例しかエントリーできていない。これは①各施設での倫理委員会の許諾を得るのに時間がかかっていること、②2002年4月の法律改正に伴い、慢性期治療施設が受傷後早期のリハビリ開始を希望するようになり、エントリーする時点(受傷後1ヶ月)までに転院してしまうケースが増えたこと、が大きな要因であると考えられる。今後は、適宜参加施設に協力を要請して目標症例数(年100例)に到達できるように努力する。多施設研究で①意識を回復する時期(最長で何年か?)、②意識を回復する割合、③意識を回復した後のADL(日常生活動作)の回復過程、④社会復帰できる可能性、⑤意識回復に影響を及ぼす因子、等を明らかにすることができれば、頭部外傷慢性期における意識回復機序の解明、慢性期におけるより積極的な意識回復治療法の開発、早期予知法の開発、さらには急性期治療法の改善など多くの糸口を発見できると期待できる。

急性期治療が終了した受傷後1ヵ月

の時点で植物状態であっても約2/3の患者で意識の回復が期待できることは患者ならびに患者家族に大きな希望を与える。しかし、実際の臨床実務では同時に、個々の患者について回復の可能性を具体的に示すことが求められる。急性期治療が終了した時点では症候学的には同じ植物状態で区別ができないが、長期的な回復・非回復を分ける現象が急性期にすでに生じていることが考えられる。意識レベルには反映されない脳活動に差があることが最も考えられる。そこで脳代謝に密接に関連する脳血流量と外部刺激に対する局所脳血流の反応性に注目した。

キセノンCTを用いて重症頭部外傷患者の脳血流量を経時的に測定すると、受傷後2~3週で急激に脳血流量が増大してそのまま正常範囲内を保つパターン(A群)と、受傷後からずっと低値が持続するパターン(B群)の2通りに大きく分かれることが今回の研究から判明した。A群とB群とでは受傷3ヵ月後の生命機能予後が明らかに違い、A群の患者は全例予後良好であった。この結果から、予後良好例と不良例では急性期において脳血流量に明らかな差があり、症候学的には同じ植物状態であっても脳血流量の回復をみる症例では意識が回復する可能性が高いことが明らかになった。このように急性期における脳血流量の推移によって予後の予知を期待できるが、脳血流の減少が予後不良例の原因か結果かについては今後の詳細な検討が必要である。さらに脳血流量の推移の結果をもとに、脳におけるグルコース代謝を直接測定することを

現在計画中である。

我々は平成 12 年度から、長期植物状態からの回復予知法に関する研究として、キセノン CT による脳血流量測定以外にも、近赤外光トポグラフィーを用いて脳血液量の変化を測定している。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ベッドサイドで計測する方法の確立を目指し、痛覚刺激や各種の音楽による聴覚刺激など種々試みたが、いずれも反応を示さないか再現性に乏しい結果であった。最終的には他動的関節屈伸刺激が反応性・再現性にすぐれていることを見出した。今回の研究結果から、急性期に両側で局所脳血流の反応性増加が認められる症例は、長期的には回復する可能性が極めて高いことが示唆され、光トポグラフィーが個々の患者の回復予知法として期待できることが示された。

現時点では植物状態の長期予後の実態を正確に把握することが臨床実務の急務であり、本研究の第一の目的である。将来的な課題としては、本研究で得た基本データをもとに、現在必ずしも明確な科学的根拠がなく経験的に行われている各種のリハビリテーションが慢性期治療の長期予後を改善する効果の有無、さらにはそれらの機序を脳血流量や局所脳血流反応の観点を中心として解析することが必要である。

重症頭部外傷後に意識が完全に回復しても、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。その発生機構や推移については未だ明らかにされていないが、神経心理学的検査が可能なレベルにまで回復しているような患者でも、受傷1ヶ月の時点で少なくとも84%(31例中26例)もの高頻度で何らかの高次脳機能障害(特に記憶力障害)が生じていることが今回の研究から判明した。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、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。

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に関して我々は、ニューロトロフィン受容体 p75 が、再生阻害因子である MAG の受容体であることを見出し、MAG による Rho の活性化により神経突起の伸展を抑制していることを示した。今年度は MAG 受容体を同定し、シグナル伝達機構を解明するとともに、この

シグナルを阻害するペプチドを開発した。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。

②に関しては、近年成人の脳にも神経幹細胞が存在していることが示され、中枢神経細胞を新生させる試みが盛んに行われている。しかし、内在性の神経幹細胞が存在することまでは確認できているが、そこから先は全く研究が進んでいない。それは、この幹細胞が必要な時に障害を修復するために働かないからである。現在、幹細胞が神経に分化し、適当な場所に移動して、軸索を伸ばしシナプスを形成するまでの、いずれのステップが成人の脳において抑制されているのかを調べているところである。損傷された中枢神経系を神経幹細胞を用いて修復させるには、まだまだ解決しなければいけない問題が山積されている。

③に関しては、昨年引き続き **Src family kinase inhibitor** である **PP1** の中枢神経保護作用について検討を進めた。**Src kinase inhibitor** は、脳虚血時の保護効果が注目されているが、脊髄損傷においても組織学的、機能的保護効果を認めた。その機序としては、従来から知られている **VEGF** を介した血管透過性の亢進による浮腫の抑制だけではなく、炎症反応を抑制することによる可能性が示唆され

た。**Src** の下流には **PI3 kinase** があり、**PI3 kinase** が活性化されると **NF- $\kappa$ B** が活性化され、**IL-1**, **TNF**, **COX-2**, **ICAM-1** などの炎症に関連する因子が活性化される。**PP1** 投与は、こうした経路を抑制することによって炎症反応を抑え、浮腫抑制効果とあいまって神経保護効果を発揮したと考えられた。

## E. 結論

植物状態を呈している患者の回復過程に関しては、今年度の研究により

- ① 急性期治療が終了した時点で植物状態を呈していても、諦めずに治療を継続すれば中枢神経機能が回復する可能性が十分にあること、
- ② 年単位で緩徐に回復する中枢神経機能が存在すること、
- ③ 急性期に植物状態を呈している患者では、下肢に対するリハビリテーションを積極的に早期から開始する必要があること、

が明らかとなった。今回の研究で長期追跡調査の pilot study としての役割は十分に達成したと考えられるので、今後は多施設臨床研究に重点を置き、『植物状態患者の実態を正確に把握すること』と『意識回復・非回復の因子を決定すること』が急務である。

意識回復の予知に関しては、キセン CT を用いた脳血流量の測定と光トポグラフィを用いた脳血流量変化の測定が有用であることを示し、意識回復機構を解明する糸口をつかむことに成功した。急性期における脳血流量の推移によって

機能予後を予測できることが判明したが、脳血流量の減少が予後不良の原因なのか結果なのかについては今後の詳細な検討が必要である。

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(31例中24例で84%)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、左半球前半部の損傷が回復しがたい言語性記憶障害と関連していることが判明した。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、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。

基礎研究では、損傷された中枢神経の回復が困難である原因を、『成人の中枢神経では十分な神経細胞新生がおこらず、損傷された組織を修復する力が不十分であること』と『中枢神経では、神経細胞が生存していたとしても軸索が再生されなければ神経回路が形成されないこと』の2点に集約して、それぞれに対する戦略を練っている。前者に対しては内在性の幹細胞を用いて神経再生を試みているが、有効な神経再生には成功していない。後者に対して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、神経突起の伸展を抑制しているシグナルを阻害するペプチドの開発に成功した。

## F. 研究発表

### 論文発表

(主任研究者)

1. Hashiguchi N, Shiozaki T, Ogura H, Tanaka H, Koh T, Noborio M, Kuwagata Y, Shimazu T, and Sugimoto H: Mild hypothermia reduces expression of Heat Shock Protein 60 in leukocytes from severely head-injured patients. *J Trauma* (in press).
2. Nakamori Y, Koh T, Ogura H, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H: Enhanced expression of intranuclear NF- $\kappa$ B in primed polymorphonuclear leukocytes in SIRS patients. *J Trauma* (in press).
3. Fujimi S, Ogura H, Tanaka H, Koh T, Hosotsubo H, Nakamori Y, Kuwagata Y, Shimazu T, Sugimoto H: Increased production of leukocyte micro-particles with enhanced expression of adhesion molecules from activated polymorphonuclear leukocytes in severely injured patients. *J Trauma* 2003, 54: 114-119.
4. Kuwagata Y, Oda J, Matsuyama S, Nakamori Y, Fujimi S, Ogura H, Nishino M, Sugimoto H: Dopamine does not correct oxygen consumption /oxygen delivery relation abnormality during vasomotor shock induced by interleukin-1 $\beta$ . *Shock* 2002, 18: 536-541.
5. Oda J, Kuwagata Y, Nakamori Y, Noborio M, Hayakata T, Fujimi S, Sugimoto H: Mild hypothermia alters the O<sub>2</sub> consumption/delivery ratio by decreasing the slope of the supply-dependent line. *Crit Care Med* 2002, 30: 1535-1540.
6. Fujimi S, Ogura H, Tanaka H, Koh T, Hosotsubo H, Nakamori Y, Kuwagata Y, Shimazu T, and Sugimoto H: Activated polymorphonuclear leukocytes enhance production of leuko-

- cyte microparticles with increased adhesion molecules in patients with sepsis. *J Trauma* 2002, 52: 443-448.
7. Matsuoka T, Yoshioka T, Tanaka H, Ninomiya N, Oda J, Sugimoto H, Yokota J: Long-term physical outcome of patients who suffered crush syndrome after the 1995 Hanshin-Awaji earthquake: prognostic indicators in retrospect. *J Trauma* 2002, 52: 33-39.
  8. Ogura H, Hashiguchi N, Tanaka H, Koh T, Noborio M, Nakamori Y, Nishino M, Kuwagata Y, Shimazu T, Sugimoto H: Long-term enhanced expression of heat shock proteins and decelerated apoptosis in polymorphonuclear leukocytes from major burn patients. *J Burn Care Rehabil* 2002, 23: 103-109.
  9. Tanaka H, Nishimura T, Hakui M, Sugimoto H, Tanaka-Taya K, and Yamanishi K: Human herpesvirus 6-associated hemophagocytic syndrome in a healthy adult. *Emerg Infect Dis* 2002, 8: 87-88.
  10. Nakamori Y, Hayakata T, Fujimi S, Satou K, Tanaka C, Ogura H, Nishino M, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H: Tracheal rupture diagnosed with virtual bronchoscopy and managed nonoperatively: a case report. *J Trauma* 2002, 53: 369-371.
  11. Takeuchi K, Iinuma K, Ogawa Y, Sugimoto H, et al: Report on the criteria for the determination of brain death in children. *Japan Medical Association Journal* 2002, 45: 336-357.
- (分担研究者)
1. Kasai K, Yamashita T, Yamaguchi A, Yoshiya K, Kawakita A, Tanaka H, Sugimoto H, and Tohyama M: Induction of mRNAs and proteins for Na/K ATPase  $\alpha 1$  and  $\beta 1$  subunits following hypoxia/reoxygenation in astrocytes. *Mol Brain Res* (in press)
  2. Masami Nishio, Eiji Kohmura, Takamichi Yuguchi, Yoshikazu Nakajima, Toshiyuki Fujinaka, Chihiro Akiyama, Akira Iwata, Toshiki Yoshimine: Neuronal apolipoprotein E is not synthesized in neuron after focal ischemia in rat brain. *Neurological Research* (in press)
  3. Toshiyuki Fujinaka, Eiji Kohmura, Takamichi Yuguchi and Toshiki Yoshimine: The Morphological and Neurochemical Effects of Diffuse Brain Injury on Rat Central Noradrenergic System. *Neurological Research* (in press)
  4. Ihara A, Hirata M, Yanagihara K, Ninomiya H, Imai K, Ishii R, Sakihara K, Izumi H, Imaoka H, Hirabuki N, Kato A, Yoshimine T, Yorifuji S: Spatio-temporal distribution in gamma oscillations related to somatosensory processing. *Neurol Res* (in press)
  5. Nakajima S, Takaoka M, Tsuzuki T, Tabuse H, Yoshimine T: Potential determinants of poor outcome in "talk and deteriorates". *Neurol Res* (in press)
  6. Miura FK, Moriuchi S, Yoshimine T: Sustained Release of Low Dose Ganciclovir from Silicone Formulation Prolonged Survival of Glioblastoma under Herpes Simplex Virus Thymidine Kinase Suicide Gene Therapy. *Gene Therapy* (in press)
  7. Kubo S, Nakata H, Sugauchi Y, Yokota N, Yoshimine T: Scalp marking using a laser pointer during preoperative CT imaging. *Neurosurgery* (in press)
  8. Kubo S, Wakayama A, Baba K, Sakaguchi T, Oshino S, and Yoshimine T: Combined transfrontal and endo-



- scopic surgery of epidural abscess following frontal sinusitis. *Neurol Res* (in press)
9. Shinosaki K, Nishikawa T, and Takeda M. Psychiatric study on behavioral and psychological symptoms of dementia. *Int J Geriatr Psychopharmacol* (in press)
  10. 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)
  11. 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)
  12. Tsujio I, Tanaka T, Kudo T, Nishikawa T, Shinosaki K, Grudke-Iqbal I, Iqbal J, and Takeda M. Onactivation and phosphorylation of GSK3 by protein kinase C in inhibition of protein kinase B. *FEBS Lett* (in press)
  13. 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)
  14. Okuzaki T, Hirano S, Kobashi S, Hata Y, and Takahashi Y. A rough set based clustering method by knowledge combination. *IEICE Trans on Inf and Syst* 2002 (in press)
  15. Nagamune K, Taniguchi K, Kobashi S, and Hata Y. Ultrasonic nondestructive evaluation for embedded objects in concrete aided by fuzzy logic. *IEICE Trans on Inf and Syst* 2002 (in press)
  16. Yamashita T, Higuchi H, and Tohyama M: The p75 receptor transduces the signal from myelin-associated glycol-protein to Rho. *J Cell Biol* 2002, 157: 565-570.
  17. Tanaka H, Yamashita T, Asada M, Mizutani S, Yoshikawa H, and Tohyama M: Cytoplasmic p21<sup>Cip1/WAF1</sup> regulates neurite remodeling by inhibiting Rho-kinase activity. *J Cell Biol* 2002, 158: 321-329.
  18. Kubo T, Yamashita T, Yamaguchi A, Sumimoto H, Hosokawa K, and Tohyama M: A novel FERM domain including guanine nucleotide exchange factor is involved in Rac signaling and regulates neurite remodeling. *J Neurosci* 2002, 22: 8504-8513.
  19. Kubo T, Yamashita T, Yamaguchi A, Hosokawa K, and Tohyama M: Analysis of genes induced in peripheral nerve after axotomy using cDNA microarrays. *J Neurochem* 2002, 82: 1129-1136.
  20. Miyake S, Yamashita T, Taniguchi M, Tamatani M, Sato K, and Tohyama M: Identification and characterization of a novel mitochondrial tricarboxylate carrier. *Biochem Biophys Res Commun* 2002, 295: 463-468.
  21. Miyake S, Yamashita T, Taniguchi M, Tamatani M, Sato K, Kawai Y, Senba E, Mitsuda N, Hori O, Yamaguchi A, and Tohyama M: Expression of mitochondrial tricarboxylate carrier TCC mRNA and protein in the rat brain. *Mol Brain Res* 2002, 100: 67-73.
  22. 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.
  23. 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.
24. Tanaka H, Nishino M, Dahms TE: Physiologic responses to small emboli and hemodynamic effects of changes in deformability of polymorphonuclear leukocytes in isolated rabbit lung. *Microvasc Res* 2002, 63: 81-90.
  25. Che YH, Yamashita T, Higuchi H, and Tohyama M: Changes in mRNA for choline transporter-like protein following facial nerve transection. *Mol Brain Res* 2002, 101: 122-125.
  26. Che YH, Yamashita T, and Tohyama M: Changes in mRNA for VAMPs following facial nerve transection. *J Chem Neuroanat* 2002, 24: 147-152.
  27. 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 human somatosensory evoked neuromagnetic fields. *Neurosci Lett.* 2002, 318: 73-76.
  28. Toyota S, Graf R, Valentino M, Yoshimine T, Heiss WD: Malignant infarction in cats after prolonged middle cerebral artery occlusion: glutamate elevation related to decrease of cerebral perfusion pressure. *Stroke* 2002, 33: 1383-1391.
  29. Kubo S, Nakata H, Tatsumi T, Yoshimine T: Headache associated with postpartum cerebral angiopathy: monitoring with transcranial color-coded sonography. *Headache.* 2002, 42: 297-300.
  30. Matsumiya G, Ohtake S, Sawa Y, Ishizaka T, Yoshimine T, Matsuda H: Simultaneous repair of stenosis in coronary and vertebral arteries and aortic regurgitation secondary to Takayasu's aortitis. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002, 50: 88-91.
  31. Moriuchi S, Wolfe D, Tamura M, Yoshimine T, Miura F, Cohen JB, Glorioso JC: Double suicide gene therapy using a replication defective herpes simplex virus vector reveals reciprocal interference in a malignant glioma model. *Gene Ther.* 2002, 9: 584-591.
  32. Kubo S, Takimoto H, Hosoi K, Toyota S, Karasawa J, Yoshimine T: Osteomyelitis of the odontoid process associated with meningitis and retropharyngeal abscess—case report. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2002, 42: 447-451.
  33. Yuguchi T, Kohmura E, Yoshimine T: PTFE-fascia patch inlay method for the anterior approach for cervical intradural spinal lesion. *Spinal Cord.* 2002, 40: 601-603.
  34. Maeda M, Moriuchi S, Sano A, Yoshimine T: New drug delivery system for water-soluble drugs using silicone and its usefulness for local treatment: application of GCV-silicone to GCV/HSV-tk gene therapy for brain tumor. *J Control Release* 2002, 84: 15-25.
  35. Kubo S, Takimoto H, Takakura S, Iwaisako K, Yamanaka K, Hosoi K, Toyota S, Ueno M, Morisako T, Karasawa J, Yoshimine T: Peritoneal shunt migration into the pulmonary artery—case report. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2002, 42: 572-574.
  36. Naoki Hatta, Takashi Nishikawa, Yoshitaka Ikejiri, Hiromasa Tokunaga, Yoshihiro Masaki, Takeshi Uema, Hiroaki Kazui, Doronbekov Talant K, Atsushi Ogino, Noriko Miyoshi, Naohiko Oku, Masatoshi Takeda : NEURAL SUBSTRATES OF

EMOTIONAL HABITUATION: PET STUDY USING FILM STIMULI. in review

37. Yoshihiro Masaki, Takashi Nishikawa, Yoshitaka Ikejiri, Hiromasa Tokunaga, Naoki Hatta, Takeshi Uema, Hiroaki Kazui, Doronbekov Talant K, Atsushi Ogino, Noriko Miyoshi, Naohiko Oku, Masatoshi Takeda: Neural substrates of emotionally valenced episodic memory: PET study using film stimuli. in review
38. Miura F, Moriuchi S, Maeda M, Sano A, Maruno M, Tsanaclis AM, Marino R Jr, Glorioso JC, Yoshimine T. Sustained release of low-dose ganciclovir from a silicone formulation prolonged the survival of rats with gliosarcomas under herpes simplex virus thymidine kinase suicide gene therapy. *Gene Ther.* 2002, 24: 1653-1658.
39. Ukai S, Shinosaki K, Ishii R, Ogawa A, Mizuno-Matsumoto Y, Inouye T, Hirabuki N, Yoshimine T, Robinson SE, Takeda M: Parallel distributed processing neuroimaging in the Stroop task using spatially filtered magnetoencephalography analysis. *Neurosci Lett.* 2002, 334: 9-12.
40. Kitamura Y T, Kubota K, Seike Y, Imabayashi M, Miyai I, Suzuki T, and Yanagida T. Motor-evoked potentials following transcranial magnetic stimulation during recovery after a stroke. *Recent Advances in Human Brain Mapping* 2002, 1232C: 907-914.

#### 学会発表

1. Fujimi S, Ogura H, Tanaka H, Koh T, Hosotsubo H, Kuwagata Y, Shimazu T, Sugimoto H. The increased production of leukocyte MP with

enhanced expression of adhesion molecules from activated PMNL in severely injured patients. (2002) The 61<sup>st</sup> American Association for the Surgery of Trauma. Orlando, Florida U.S.A.

2. Sumi Y, Ogura H, Tanaka H, Fujimi S, Koh T, Nakamori Y, Kuwagata Y, Shimazu T, Sugimoto H. Paradoxical changes of cytoskeleton and micro-particle formation in monocytes and PMNL in severe SIRS patients. (2002) The 61<sup>st</sup> American Association for the Surgery of Trauma. Orlando, Florida U.S.A.
3. Masami Nishio, Takamichi Yuguchi, Chihiro Akiyama, Toshiyuki Fujinaka, Yoshikazu Nakajima, Masaaki Taniguchi, Eiji Kohmura, Toshiki Yoshimine. (2002) Nuclear Factor kappa-B decoy oligodeoxynucleotides can reduce the ischemic spinal cord injury of rat. The 6<sup>th</sup> International Neuro-trauma Symposium. Tampa, Florida, U.S.A.
4. Chihiro Akiyama, Takamichi Yuguchi, Masami Nishio, Takahiro Tomishima, Toshiyuki Fujinaka, Masaaki Taniguchi, Yoshikazu Nakajima, Eiji Kohmura and Toshiki Yoshimine. (2002) Src family kinase inhibitor PPI improves motor function after spinal cord contusion in rats. The 6<sup>th</sup> International Neurotrauma Symposium. Tampa, Florida, U.S.A.
5. Masami Nishio, Takamichi Yuguchi, Chihiro Akiyama, Yoshikazu Nakajima,

- Masaaki Taniguchi, Toshiyuki Fujinaka, Toshiki Yoshimine. (2002) Nuclear Factor kappa-B decoy protect the spinal cord injury following ischemia/ reperfusion in rats. International Symposium on Molecular Mechanism and Epochal Therapeutics for Ischemic Stroke Dementia. Okayama, Japan.
6. Chihiro Akiyama, Takamichi Yuguchi, Masami Nishio, Takahiro Tomishima, Toshiyuki Fujinaka, Masaaki Taniguchi, Yoshikazu Nakajima and Toshiki Yoshimine. (2002) Src family kinase inhibitor PP1 improves motor function by reducing edema after spinal cord contusion in rats. Brain Edema 2002. Hakone, Kanagawa, Japan.
  7. Higuchi H, Yamashita T, Tohyama M. (2002) Cloning of a novel protein that interacts with p75NTR intracellular domain. The 3rd Asian Pacific International Congress of Anatomists (APICA).
  8. Higuchi H, Yamashita T, Tohyama M. (2002) cAMP-dependent protein kinase phosphorylates the p75 receptor and regulates its localization to lipid rafts. Cold Spring Harbour Meeting.
  9. Kitamura YT, Kobashi S, Hata Y, Takeda M, and Yanagida T. (2002) Dissociation in human prefrontal cortex on a procedural learning-related activation: A study by near-infrared optical topography. The annual meeting of the Society for Neuroscience (SFN), Orland, U.S.A.
  10. Kobashi S, Matsumoto T, Hata Y, Kitamura YT, and Yanagida T. (2002) Fuzzy laterality index for determining the language dominance using near-infrared spectroscopy. The 4<sup>th</sup> International Forum on Multimedia and Image Processing (IFMIP).
  11. Shimizu T, Nagamune K, Kobashi S, Kondo K, Hata Y, Kitamura YT, and Yanagida T. (2002) An automated ultrasound discrimination system of tissue under an obstacle by fuzzy reasoning. The 1<sup>st</sup> international conference on Soft Computing and Intelligent Systems.
  12. Kobashi S, Zui T, Hata Y, Kitamura YT, and Yanagida T. (2002) Wavelet based analysis of the hemodynamic response delay in event-related functional MRI." The 8<sup>th</sup> annual meeting of the Organization for Human Brain Mapping (HBM), Sendai, Japan.
  13. Kobashi S, Matsumoto T, Hata Y, Kitamura YT, and Yanagida T. (2002) Fuzzy logic approach to investigating the language dominance using near-infrared spectroscopy. The 8<sup>th</sup> annual meeting of the Organization for Human Brain Mapping (HBM), Sendai, Japan.
  14. Hata Y, Shimizu T, Kobashi S, Kondo, K, Kitamura YT, and Yanagida T. (2002) A fuzzy logic approach to transcranial sonography system with