

図2
アテローム血栓性脳梗塞(血栓性メカニズム)

ゴルフ終了後に左片麻痺で発症した66歳の男性。MRI (T2強調画像)では、右前頭葉、頭頂葉白質、放線冠に梗塞(図中矢印)を認めるが、大脳皮質の大部分の領域は梗塞を免れている。後日施行した右頸動脈造影(RCAG)では右中大脳動脈の閉塞(図中矢印)が確認された。



図3
アテローム血栓性脳梗塞(塞栓性メカニズム)

左片麻痺を呈した62歳の男性症例。右頸動脈造影で、頸動脈分岐部に高度狭窄性病変(図中矢印)を認め、MRI拡散強調画像(DWI)にて、右大脳半球に多発性の大小さまざまな梗塞病変を認めた。

部の閉塞により大脳基底核、橋底部に梗塞を発症するものであり、臨床的にはラクナ梗塞との鑑別が必要となる。頭蓋内主幹動脈が責任血管であることが多く、MRアンギオグラフィー、場合によっては脳血管造影による検索が必要となる。

図2に66歳男性でゴルフ終了時に左片麻痺で発症し、右中大脳動脈の血栓性閉塞により、右前頭葉、頭頂葉白質に広範な脳梗塞を呈し、血栓性メカニズムが考えられる症例を呈示した。血栓性メカニズムでは、もともとアテローム硬化病変のある血管での血栓形成、プラーク破綻が原因なので、その末梢の灌流領域、特に皮質はある程度側副血行路が発達している場合が多い。治療を考える上では、血栓そのものの進展、拡大を防ぐことが重要と考えられる。

2. 塞栓性メカニズム アテローム硬化病変に付着した血栓やプラーク断片が剥がれ遠

位脳動脈での塞栓による動脈閉塞で生ずる。潰瘍形成したアテローム硬化病変や粥腫内出血などで急性閉塞を来たした際に特に塞栓子が剥がれ遠位部に流されやすいと考えられている。頸動脈病変の評価には、頸動脈超音波検査が有用であるが、大動脈粥腫が責任血管である大動脈原性脳塞栓症を疑った場合には経食道心エコーでの検索が必要となる。発症形式としては突発発症の形式をとる場合が多く、臨床症状だけでは心原性脳塞栓症との鑑別が難しい場合もある。しかし飛来する塞栓子は心原性脳塞栓症の場合に比べ、小さめで数が多い傾向にあり、散在性に大小さまざまなサイズの梗塞病変がみられることが多い。

図3には、62歳男性、右頸動脈分岐部の高度狭窄病変からの塞栓症により大脳半球に多発性梗塞病変を発生した症例を呈示した。メカニズムが塞栓性であるので自然再開通

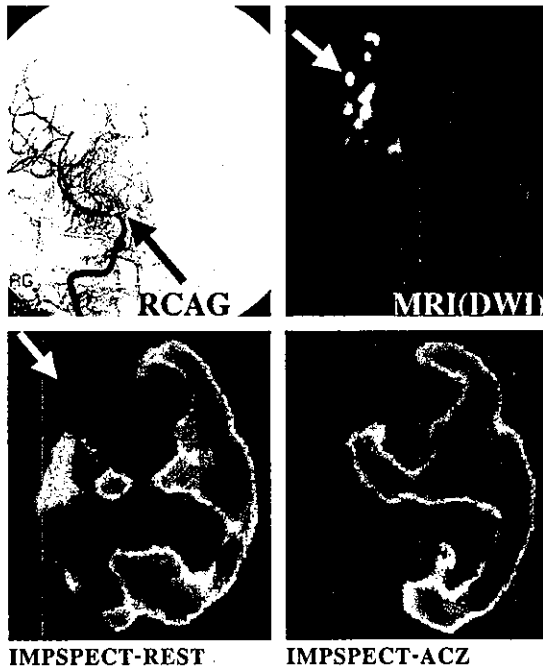


図4 アテローム血栓性脳梗塞(血行力学性メカニズム)
歩行時の左下肢脱力にて発症した66歳の女性症例。右頸動脈造影で右中大脳動脈起始部に高度狭窄、右前大脳動脈閉塞(図中矢印)を認めた。MRI拡散強調画像(DWI)では、右前頭葉に梗塞病変(図中矢印)を認めた。123I-IMPを用いた脳血流SPECT検査(IMP-SPECT)では、安静時に右前頭葉の血流低下、アセタゾラミド負荷(ACZ)では、右脳半球の広範な領域で血流増加率の低下(脳循環予備能の低下)が観察された。

を起こし、出血性脳梗塞を呈する事もある。また、本メカニズムでは経頭蓋ドプラ法(TCD)で微小塞栓子シグナル(HITS)が捉えられることが多く、チクロピジンやアスピリンといった抗血小板薬の効果判定にも有用である。頸動脈硬化病変が塞栓源の場合には、頸動脈内膜血栓摘除術の適応となる。

3. 血行力学性メカニズム 主幹脳動脈にアテローム硬化による狭窄、閉塞がすでに存在するため周辺領域からの側副血行路がある程度発達しているが、血圧低下や心拍出量の低下などの原因で脳灌流圧が低下した際に狭窄閉塞部より遠位側でもっとも灌流圧の低下しやすい部位(分水嶺領域)が虚血に陥り発症する脳梗塞である。閉塞、狭窄した動脈の検索とともに、脳循環代謝動態

をSPECT, PETといった核医学的手段により精査する必要がある。

最も多いのが内頸動脈閉塞または中大脳動脈が閉塞した例である。内頸動脈閉塞例では、隣接する主幹脳動脈灌流域の境界部や前頭葉・頭頂葉深部白質に、中大脳動脈閉塞例では皮質枝と穿通枝の境界領域に梗塞が発生する。血管閉塞・狭窄部位以下の末梢脳灌流圧の低下によって生ずる脳虚血は、血行力学的に安静時脳血流量の維持と脳循環予備能の低下を認めるStage Iと安静時脳血流量の低下と脳循環予備能の喪失が見られるStage IIに分類される。Stage IIはPETでは脳血流量(CBF)が低下しているが脳酸素代謝率(CMRO₂)が保たれ、酸素摂取率の上昇がみられる貧困灌流症候群(misery perfusion)の状態に相当し、頭蓋外内血管吻合術の適応が考えられる。

図4は、66歳女性で左下肢脱力を主訴とし、右中大脳動脈高度狭窄、右前大脳動脈閉塞により、右前頭葉に脳梗塞病変を認めた症例である。SPECTによる脳血流検査で、右大脳半球の血流低下、アセタゾラミド負荷による脳循環予備能の低下を認めた。

文献

- 1) 北川一夫, 松本昌泰, 堀 正二: アテローム血栓性脳梗塞の診断と治療。『脳梗塞後遺症の新しい診断・治療指針』亀山正邦編。医薬ジャーナル社, 大阪, 2001; p 69-82.

【お詫びと訂正】

4月1日号掲載のNo.13 NC-58 図4の文献は以下のようになります。お詫びして訂正させていただきます。
誤: 文献4→正: 文献3

抗血小板剤 薬価基準収載

指定医薬品

パナルジン[®]錠

Panaldine[®] (一般名: 塩化チクロピジン)

※錠剤100mgを2錠服用、食後服用です。

細粒10%*

★効能・効果、用法・用量、警告、禁忌および使用上の注意等につきましては、製品添付文書をご参照ください。

いのち、ふくらまそう。
第一製薬株式会社
資料請求先
東京都中央区日本橋三丁目14番10号

特集

高血圧診療チップス

治す

10

脳血管障害合併例の 降圧療法

松本昌泰, 北川一夫, 堀正二
(大阪大学大学院医学系研究科病態情報内科学)

高血圧は洋の東西を問わず脳血管障害の最大の危険因子であり、わが国では高血圧の標的臓器障害のなかでも脳血管障害の頻度が最も高い。近年の脳卒中急性期治療法の進歩や致死的な脳出血の減少に伴い脳卒中の死亡率は著減しているが、なお死因の第3位を占め、その罹病率は人口構造の高齢化の進行によりむしろ増加しつつある。このため、日常臨床において脳血管障害を伴う高血圧例に遭遇する機会は多く、今後ますます増加するものと予想される。従来より脳血管障害を伴う高血圧症例の降圧療法については、降圧の是非やその程度などについての議論が数多くなされてきたが、具体的な降圧手順、再発予防のための降圧レベルの設定などに確固とした基準はなく、個々の担当医の判断に任せざるをえない状態が続いていた。しかしながら、脳血管障害の病態診断法の長足の進歩により、脳卒中の各臨床病型の診断が確実になされるようになり、各臨床病型の病期における脳循環動態を踏まえた降圧治療が可能となってきた。本稿では、まず脳血管障害の主な病型を紹介し、脳循環動態臨床評価の意義についてまとめ、その病期や病型に応じた降圧療法の実際について、最近のガイドラインや臨床試験を踏まえた解説を試みる。

脳血管障害の分類

表1には国際的に現在最も広く用いられている米国NINDSによる脳血管障害の分類¹⁾(CVD-Ⅲ)を提示する。

この分類では脳卒中は脳出血、くも膜下出血、脳動静脈奇形に伴う頭蓋内出血、脳梗塞の4タイプに分けられている。そのうち、脳出血、くも膜下出血、脳梗塞は3大脳卒中とよばれるが、脳梗塞はさらにアテローム血栓性脳梗

塞, 心原性脳塞栓症, ラクナ梗塞の3つの臨床病型に分けられている。脳卒中はそのタイプや病巣の局在, 重症度や病期により多様な病態を呈する疾病であり, 脳卒中を合併する高血圧症例の治療に際して, 当該患者の脳卒中がどのような病型に属しているのかを知ることが必須の前提条件である。したがって, 脳卒中の臨床病型や発症要因が判然としない慢性期症例の場合は, 脳卒中を専門とする神経内科医や脳血管内科医あるいは脳外科医(総称してstrokologistとよぶことが提唱されている²⁾)に, まずはじめにコンサルトすることが望ましい。

高血圧は, 細小動脈の高血圧性病変の進行による小血管病 (small vessel disease) を土台として発症する高血圧性脳出血やラクナ梗塞などの臨床病型に密接に関わっている。また, 高血圧は糖尿病や高脂血症などとともに, アテローム性動脈硬化病変の進展による大血管病 (large vessel disease) を基盤として発症するアテローム血栓性脳梗塞の危険因子でもある。さらに, 高血圧は心房細動や心筋梗塞などの発症を通じて心原性脳塞栓症の間接的な危険因子ともなっており, 血圧上昇は脳出血や脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血の直接の発症要因でもある。したがって, これらの病型の脳卒中を伴う高血圧患者の降圧は再発予防を図るうえで欠かせないが, その際には以下

の脳循環動態と血圧との関係を熟知しておく必要がある。

脳血流自動調節能と背景予備能

脳血流は体血圧変化の影響を受けにくいように自動調節されており, これを脳血流自動調節能という(図1)。すなわち, 血圧上昇時には脳内細動脈などの抵抗血管が収縮し, 逆に血圧低下時には抵抗血管が拡張して脳血流を一定に保っている。脳血管障害急性期には大半の症例でこの自動調節能が障害され, 脳血流は血圧依存性に変化する。この障害は通常発作3日以降急速に回復し³⁾, 1ヵ月以内に正常化することが多いが, その持続時間も脳卒中の種類や, 病巣部位, 大きさなどによ

表1 脳血管障害の分類(CVD-Ⅲ)
(文献1より引用)

- A 無症候性
- B 局所性脳機能障害
 - 1. 一過性脳虚血発作
 - 2. 脳卒中
 - a. 経過
 - 1) 改善型
 - 2) 悪化型
 - 3) 安定型
 - b. 脳卒中のタイプ
 - 1) 脳出血
 - 2) くも膜下出血
 - 3) 脳動静脈奇形に伴う頭蓋内出血
 - 4) 脳梗塞
 - a) 機序
 - ① 血栓性
 - ② 塞栓性
 - ③ 血行力学性
 - b) 臨床的カテゴリー
 - ① アテローム血栓性脳梗塞
 - ② 心原性脳塞栓症
 - ③ ラクナ梗塞
 - ④ その他
- C 血管性痴呆
- D 高血圧性脳症

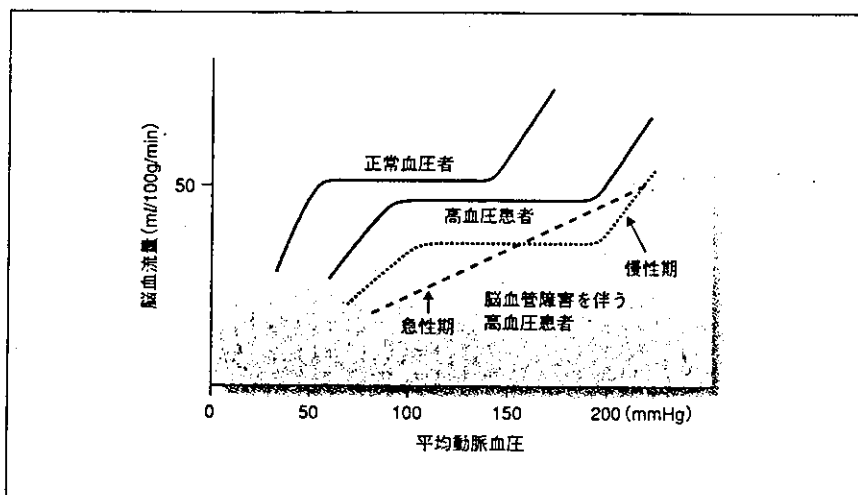


図1 脳血流自動調節能と病態による変化

り異なるとされ、下部脳幹梗塞例などでは1ヵ月以上にわたることもまれではない⁴⁾。また、長期に高血圧が持続した例や慢性期の脳血管障害例では脳血管の拡張能が低下し、自動調節能のカーブが右下方に偏位しており、降圧により脳虚血をきたしやすい状態にある^{5,6)}。Matsushita⁷⁾は、CT上の傍側脳室低吸収域(PVL)のみられる症例では自動調節能の障害が高率にみられることを明らかにしている。最近では、脳循環代謝計測法の進歩により多数の臨床例で脳血管の拡張能(これを脳循環予備能と称している)を評価することも可能となってきた⁸⁾。慢性期の脳血管障害例での脳循環予備能の低下が明らかとされているが、なかでも頭蓋内外の脳主幹動脈に閉塞性病

変を有する症例では顕著な脳循環予備能の低下が観察されている⁹⁻¹²⁾。

急性期の降圧療法

脳血管障害急性期(発症後2週以内)には病型を問わず血圧上昇をきたすことが多いが、そのほとんどが1~2週で発症前のレベルまで自然下降する¹³⁾ため、原則として積極的な降圧療法は行わない⁶⁾。この急性期の昇圧機序としては、脳卒中発症にともなうストレスや頭蓋内圧亢進に対する一種の防御機構としての反応性の血圧上昇などが関わりとされており、むしろ脳浮腫の治療や鎮静などにより昇圧要因の除去を図る必要がある。また、脳血流自動調

表2 脳梗塞急性期の血圧治療のガイドライン(橋本, 岡田, 峰松による)(文献18より引用)

降圧基準と使用薬剤
①拡張期血圧140mmHg以上の場合(5分以上の間隔で2回測定): 微量点滴静注できる薬剤(ジルチアゼム, ニカルジピン)で降圧
②収縮期血圧220mmHg以上, または拡張期血圧121~140mmHg, または平均血圧130mmHg以上の場合(20分以上の間隔で2回測定): 微量点滴静注, 経口薬(Ca拮抗薬, ACE阻害薬), 湿布薬(亜硝酸薬)にて降圧, Ca拮抗薬の舌下投与は避ける
③収縮期血圧185~220mmHg, または拡張期血圧105~120mmHgの場合では, 左心不全, 大動脈解離, 急性心筋梗塞の合併がなければ緊急治療の必要がない(血栓溶解療法を行う際を除く)
④収縮期血圧185mmHg以下, かつ拡張期血圧105mmHg以下の場合は原則として降圧しない
降圧目標
①合併症がなければ収縮期血圧185~220mmHg/拡張期血圧105~120mmHg
②左心不全, 心筋梗塞, 大動脈解離を合併する場合: 収縮期血圧185mmHg以下, かつ拡張期血圧105mmHg以下
③血栓溶解療法中と投与後24時間: 収縮期血圧180mmHg以下, かつ拡張期血圧105mmHg以下

節能の障害のために、降圧により脳血流低下をきたしやすいこともその理由とされている。ただし、脳出血の超急性期(発症3~6時間以内)では、血腫の増大や再出血を避ける意味で、収縮期血圧で160~180mmHgを目標に治療前値の80%程度までの降圧を図ることが望ましい¹⁴⁾。また、くも膜下出血の再出血は24時間以内に起こることが多いとされ、収縮期血圧で140mmHg以下程度に下げよう積極的な降圧を図る。虚血性脳血管障害の場合も、発症後1~2日経過しても収縮期血圧で220mmHgあるいは平均動脈血圧で130mmHg以上の状態が続くときには降圧を考慮する必要がある^{15,16)}。さらに、発症3~6時間以内にt-PA (tissue plasminogen activator) やウロキナーゼによる血栓溶解療法が実施される場合には、出血性脳梗塞を避けるためにより厳格な血圧コントロール(180/105mmHg以下)が必要とされる。表2に米国AHAによる血圧管理のガイドライン^{16,17)}を参考とした治療指針¹⁸⁾を提示する。

慢性期の降圧療法

脳卒中を既往に有する症例は有さない例に比し、はるかに高率に脳卒中を発症することが知られており、脳卒中の最大の危険因子である高血圧をいか

にコントロールするかは慢性期の脳卒中患者の治療上きわめて重要な問題である。したがって、これまでにこの問題についていくつかの研究結果が報告されているが、その結果は必ずしも一致していなかった^{19,20)}。これには、脳出血と脳梗塞の区別など、脳卒中の病型分類すら十分にはなされてこなかったことが関わっているものと思われる。また、脳梗塞の場合も臨床病型により脳卒中発症率や同じ臨床病型での再発率が大きく異なることも知られており²¹⁾、降圧の意義も病型ごとに異なるものと予想される²²⁾。事実、Irieら²³⁾は後ろ向き研究ではあるが、脳卒中後の血圧と再発率との関係には、病型による違いが顕著であることを報告している。しかしながら、つい最近まで、この問題に明確な解答を与える前向きの大規模臨床試験はほとんど報告されておらず、脳卒中既往例の血圧コントロールの効果について9つの臨床試験(Carter, HSCSG, EWPHE, Coope, HDFP, MRFIT, SHEP, STOP, PATS)をまとめたINDANA Project Collaboratorsによるメタアナリシス²⁴⁾による有意な28%の再発抑制効果が示唆されていたのみであり、この際にも脳卒中の統一した病型分類がなされていないことが問題であった。その意味で、著者らを含むわが国の研究者も多数参加して、この問題に正面から取り組んだ初の大規模臨床試験で

あるPROGRESS (Perindopril Protection Against Recurrent Stroke Study) 試験²⁵⁾の結果はきわめてインパクトの強いものといえ、以下には本試験の概要と意義²⁶⁾について解説する。

PROGRESS試験の概要と意義

PROGRESS試験は脳卒中慢性期におけるACE阻害薬の効果について研究する国際共同研究である。これには世界で7地域の9ヵ国、172施設が参加し、日本や中国の東洋と欧州諸国や豪州などの西洋が共同して同じプロトコールで研究するという画期的な手法がとられており、遺伝素因についてもインフォームドコンセントを得て検索している。試験薬としては、T/P比が高く、脳血管障害患者の血圧を確実に低下させるが脳血流量に影響を及ぼさないことなどが報告されているACE阻害薬のペリンドプリルが選定された。患者登録条件は、脳梗塞、脳出血、一過性脳虚血発作など、くも膜下出血を除くなんらかの脳卒中を無作為化前2ヵ月以上~5年以内に経験し、外来診療が可能な程度のADLを有する症例であり、1996年から1997年にかけて6,105例が登録された。年齢は原則として80歳未満で、血圧値に関する規定はない。試験方法は、対象を①ペリン

ダブル投与群, ②プラセボ投与群の2群に無作為に分類して4年間以上追跡, 一次評価項目としては脳卒中の再発を, 二次評価項目として, ①心血管系事故, ②痴呆・認知機能, ③身体障害, ADLを評価するものである(図2)。

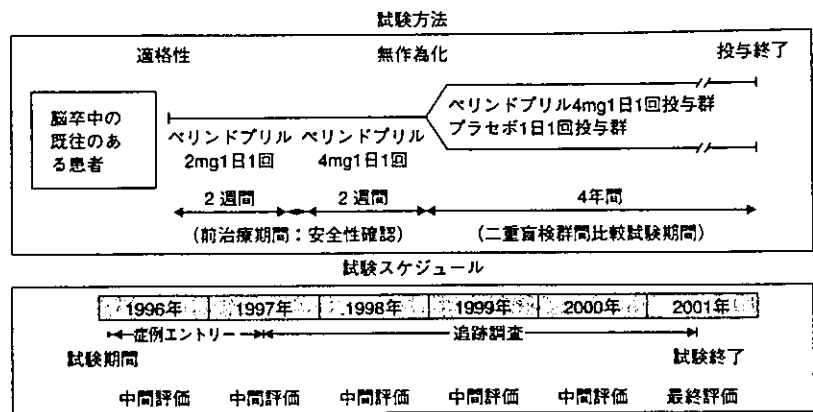


図2 PROGRESSの試験方法とスケジュール(文献25より引用)

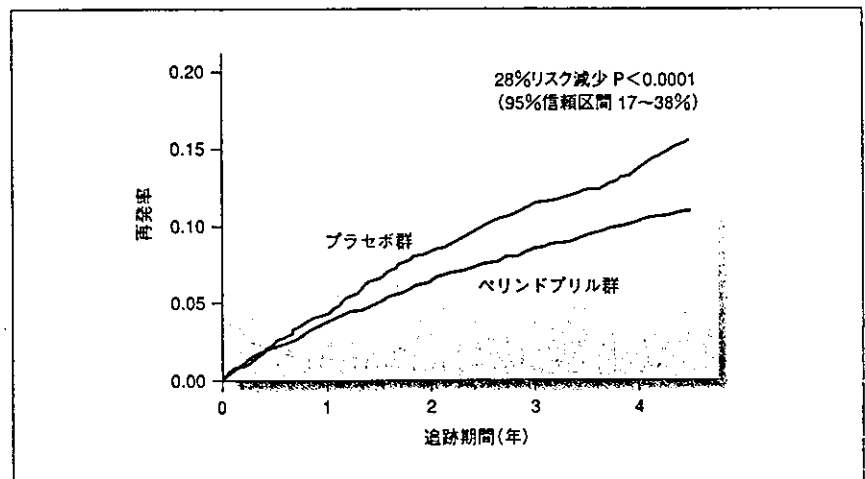


図3 脳卒中再発抑制効果
14例の慢性期脳卒中患者を5年間ペリンドプリルにより治療すれば, 脳卒中の発症を1例抑えられることを意味する(文献25より引用)。

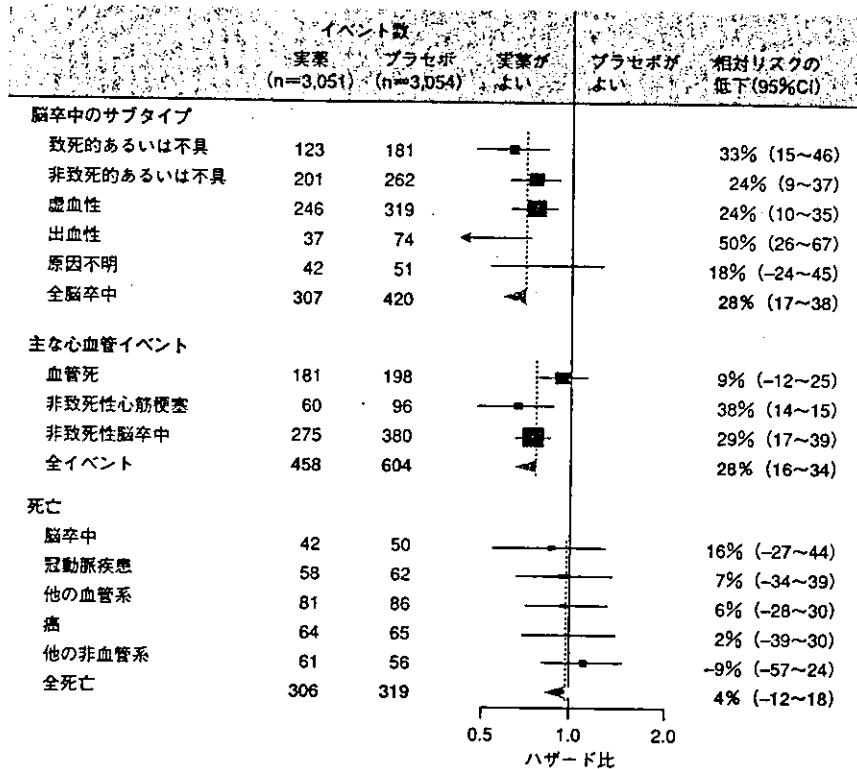


図4 PROGRESSにおける相対リスクの低下
脳卒中病型別、主な心血管事故、死亡に与えた治療の影響 (文献25より引用)。

また、その他にも各種のサブスタディーが実施されており、わが国ではCTによる無症候性脳梗塞に関する研究が実施されている。なお、ペリンドプリル以外のACE阻害薬を除けば、併用薬や補助療法にはなんら制限はなく、わが国でも815例がランダム化されている。

本研究の結果は2001年の6月の欧州高血圧学会を皮切りとして各種の関連国際会議でも報告され、大きな注目を

集めた。一次評価項目である脳卒中の再発については、図3、4に提示するように、ペリンドプリル群ではプラセボ群に比し28%もの有意な脳卒中発症抑制および26%の心血管系事故発症抑制効果が観察されている。また、脳卒中の臨床病型別の検討もなされており、脳出血が0.50、虚血性脳卒中が0.76と、脳出血例での再発抑制効果がより強いものの、病型にかかわらず抑制できることが示されている。さらに、

虚血性脳卒中の3つの臨床病型であるラクナ梗塞、心原性脳塞栓症、アテローム血栓性脳梗塞についても検討されており、どの臨床病型の脳梗塞例についてもそれぞれ33%、33%、39%の再発抑制効果が得られることが明らかにされている。また、興味深いことに、脳卒中発症例における痴呆・高度の認知機能障害、ADL障害の発現頻度も有意に抑えられることが示されている。

以上の結果は、エントリー時の血圧値である147/86mmHgから、従来の治療に加えてペリンドプリル(4mg/日)や降圧利尿薬であるインダパミド(2mg/日)の追加投与により血圧を138/82mmHg程度に持続的に降下させることで、平均年齢64歳の患者で4~5年間で28%ものさらなる再発抑制効果が得られることを実証し、慢性期の脳卒中患者における降圧の重要性を示している。ただし、当初エントリー予定であった7,121例中の1,016例(14%)が4週間の薬剤認容性のテスト期間に脱落しており、その主な理由としてめまいや低血圧症状(3.4%)、咳(2.7%)などが筆頭にあげられていることにも注意を要する。つまり、PROGRESS試験により、高血圧治療ガイドライン²⁶⁾の脳血管障害合併例の降圧治療のうち、降圧目標値や推奨使用薬剤は一部改められる必要があるものと思われるが、個々の降圧薬の特徴

(表3)を把握し^{27,28)}、個々の患者の血圧日内変動^{29,30)}や臨床病型に配慮した緩徐な降圧を心がけることの重要性^{26,27,30)}は変わらないものと思われる。

おわりに

脳血管障害合併高血圧患者の治療がいかにあるべきかは、本病態が高頻度であるわが国においてきわめて重要な課題であった。その意味で、本課題に明確な解答を与える初めての大規模臨床試験であるPROGRESS試験の発表

はきわめて意義が大きいものといえる³¹⁾。また、それ以上に、本試験ではわが国の研究者、患者が積極的に参加した初めての国際大規模臨床研究であり、「適切にエビデンスを使うEBMの実践のためには、質の高いエビデンスをつくることにも参加しなければならない」という臨床の研究者にとって当たり前の責務³²⁾を、21世紀の初頭に果たすことができた記念すべき研究といえる。本研究の日本の責任者として文字通り粉骨砕身のご尽力をされた尾前照雄先生(国立循環器病センター名誉総長)に、本研究に参加した研究者の一人として心からの謝意を捧げたい。

表3 各種降圧薬の特徴と適用(文献27より引用)

種類	適用	留意点
利尿薬	△-○	脱水、脳質、糖代謝悪化に注意
β遮断薬	○	ISAを有するものは脳血流を増加させる
Ca拮抗薬	○-○	脳血流増加(夜間の過降圧に注意)
ACE阻害薬	○	脳血流自動調節能改善作用、QOLを上げる
アンジオテンシン受容体拮抗薬	○?	ACE阻害薬と同等の臓器保護効果、QOL改善効果が期待される
α遮断薬	○-○	脳血流自動調節能改善作用(起立性低血圧に注意)

ISA:内因性交感神経刺激作用、QOL:quality of life

文献

- 1) National Institute of Neurological Disorders and stroke Ad Hoc Committee: Classification of cerebrovascular diseases III. Stroke 21: 637-676, 1990.
- 2) 藤島正敏: 脳血管障害の位置づけと脳卒中学(Strokeology). 脳卒中 19: 421-425, 1997.
- 3) Paulson OB, Olesen J, Christensen MS: Restoration of autoregulation of cerebral blood flow by hypocapnia. Neurology 22: 286-293, 1972.
- 4) Ebihara S, Gotoh F, Okayasu H, et al: Dysautoregulation in lower brainstem infarction. in "Cerebral Vascular Disease 3" (Meyer JS, Lechner H, Reivich M, et al, eds), Excerpta Medica, Amsterdam, 1981, p154-159.
- 5) Strandgaard S, Paulson OB: Cerebral blood flow and its pathophysiology in hypertension. Am J Hypertens 2: 486-492, 1989.
- 6) Shinohara Y: Management of blood pressure in acute and chronic cerebral blood flow. J Stroke Cerebrovasc Dis 4: 80-83, 1994.
- 7) Matsushita K, Kuriyama Y, Nagatsuka K, et al: Periventricular white matter lucency and cerebral blood flow autoregulation in hypertensive patients. Hypertension 23: 565-568, 1994.
- 8) 奥直彦, 松本昌泰, 堀正二: 脳血流測定—超音波, MRI, RI—. 総合臨床 47: 268-273, 1998.
- 9) Maeda H, Matsumoto M, Handa N, et al: Reactivity of cerebral blood flow to carbon dioxide in various types of ischemic cerebrovascular disease: Evaluation by the transcranial Doppler method. Stroke 24: 670-675, 1993.
- 10) Oku N, Matsumoto M, Hashikawa K, et al: Carbon dioxide reactivity by consecutive technetium-99m-HMPAO SPECT in patients with a chronically obstructed major cerebral artery. J Nucl Med 35: 32-40, 1994.
- 11) Hashikawa K, Matsumoto M, Moriwaki H, et al: Split dose iodine-123-IMP SPECT: Sequential quantitative regional cerebral blood flow change with pharmacological intervention. J Nucl Med 35: 1226-1233, 1994.
- 12) Moriwaki H, Matsumoto M, Hashikawa K, et al: Hemodynamic aspect of cerebral watershed infarction: Assessment of perfusion reserve using iodine-123-iodoamphetamine SPECT. J Nucl Med 38: 1556-1562, 1997.
- 13) Wallace JD, Levy LL: Blood pressure after stroke. JAMA 246: 2177-2180, 1981.
- 14) 卜蔵浩和, 小林祥泰: 脳卒中の初期対. 急性期の高血圧にはどう対処するか? Modern Physician 21: 947-950, 2001.
- 15) Powers WS: Acute hypertension after stroke. Neurology 43: 461-467, 1993.
- 16) Adams HP Jr, Brott TG, Crowell RM, et al: Guidelines for the management of patients with acute ischemic stroke. Stroke 25: 1901-1914, 1994.
- 17) Adams HP Jr, Brott TG, Furlan AJ, et al: Guidelines for thrombolytic therapy for acute stroke: a supplement to the guidelines for the management of patients with acute ischemic stroke. Stroke 27: 1711-1718, 1996.
- 18) 藤井清孝, 岡田 靖: ブレインアタック, 超急性期の脳卒中診療, 中山書店, 1999.
- 19) Hypertension, Detection, and Follow-up Program Cooperative Group: I. Reduction in mortality of persons with high blood pressure, including mild hypertension. JAMA 242: 2562-2571, 1979.
- 20) Meissner I, Whisnant JP, Garraway WM: Hypertension management and stroke recurrence in a community (Rochester, Minnesota, 1950-79). Stroke 19: 459-463, 1988.
- 21) Yamamoto H, Bogousslavsky: Mechanisms of second and further strokes. J Neurol Neurosurg Psychiatry 64: 771-776, 1998.
- 22) 入江寛美, 井林雪郎: 降圧薬治療は脳卒中の再発予防にも有効か? EBMジャーナル2: 296-302, 2001.
- 23) Irie K, Yamaguchi T, Minematsu K, et al: The J-curve phenomenon in stroke recurrence. Stroke 24: 1844-1849, 1993.
- 24) The INDANA project collaborators: Effect of antihypertensive treatment in patients having already suffered from stroke: Gathering the evidence. Stroke 28: 2557-2562, 1997.
- 25) PROGRESS Collaborative Group: Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. Lancet 358: 1033-1041, 2001.
- 26) 日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会: 高血圧治療ガイドライン2000年版 (JSH2000), 日本高血圧学会, 東京, 2000.
- 27) 北川一夫, 松本昌泰, 堀正二: 合併症を伴う高血圧—個別治療の実例. 脳血管障害. medicina 37: 418-421, 2000.
- 28) 清水義臣, 實學英隆, 松本昌泰, 堀正二: 脳血管障害からみた降圧薬の選択. 血圧 5: 49-53, 1998.
- 29) Kario K, Pickering TG, Matsuo T, et al: Stroke prognosis and abnormal nocturnal blood pressure falls in older hypertensives. Hypertension 38: 852-857, 2001.
- 30) 松本昌泰, 堀正二: 早朝の心血管イベント. 3) 脳血管障害. 血圧 8: 133-139, 2001.
- 31) 松岡博昭, 尾前照雄, 松本昌泰: 「PROGRESS」発表の意義. 血圧 8: 1311-1322, 2001.
- 32) 内山真一郎, 森悦朗, 清原裕, 松本昌泰: EBMトーク. EBM時代の脳卒中診療. エビデンスを“つくる”ことと“つかう”ことの意義. EBMジャーナル 2: 514-526, 2001.

APOE 蛋白質のラジカルスカベンジャー作用による脳虚血保護効果

柳原 武彦^{1, 2}、北川 一夫³、松本 昌泰^{2, 3}

大阪神経疾患研究所 1、大阪大学大学院医学系研究科神経機能医学 2、病態情報内科学 3

研究要旨

APOE 蛋白質は脂質代謝に重要な蛋白質であるが、脳内においてはシナプス可塑性、神経突起の伸長への関与が想定されている。APOE 遺伝子のε 4 アイソフォームがアルツハイマー病の危険因子であることが明らかとなり、APOE 蛋白質の脳内での生理的な役割が注目されている。一方、これまで各種の脳虚血モデルにおいて、内因的に存在する APOE 蛋白質が虚血脳に対する保護効果を示すことが、遺伝子変異マウスを用いた仕事から明らかにされている。しかしその保護機構のメカニズムは明らかになっていない。本研究では、まず APOE 欠損マウスと野生型マウスから初代神経細胞培養系を作成し、虚血性神経細胞死に際してその関与が想定されている興奮性アミノ酸毒性、酸化ストレス、アポトーシスに対する神経細胞の脆弱性の差異について検討した。グルタミン酸負荷、スタウロスポリン添加に対しては両群間で障害程度に差がみられなかったが、過酸化水素負荷に対しては APOE 欠損マウス由来の神経細胞は野生型の神経細胞に比べ有意に脆弱であった。次に、成熟雄性 APOE 欠損マウスとその野生型マウスをおのおの普通飼育食、ビタミン E 含有食にて2ヶ月飼育後に、両側総頸動脈を12分間閉塞再灌流し、7日後に海馬での神経細胞障害程度を評価した。普通食では、野生型に比べ APOE 欠損マウスでは有意に強い神経細胞障害を認めた。野生型マウスではビタミン E 負荷による病変抑制効果はなかったが、APOE 欠損マウスではビタミン E 負荷により有意な神経細胞死の軽減効果が観察された。以上の結果から、APOE 蛋白質の脳虚血保護効果は、主としてフリーラジカルスカベンジャー作用を介したものであると結論された。

1. はじめに

APOE 欠損マウスでは野生型マウスに比べ、中大脳動脈閉塞再灌流モデル (1) や一過性前脳虚血モデル (2, 3) で発生する脳梗塞サイズや神経細胞死の程度が増悪すること、APOE 欠損マウスでは脳室内への APOE の投与により線条体、海馬 CA2 での神経細胞死が軽減すること (4)、APOE4 を過剰発現したトランスジェニックマウスでは APOE3 トランスジェニックマウスより中大脳動脈閉塞による脳梗塞サイズが大きいこと (5)、などのこれまでの研究結果から、内因的に存在するかもしくは外部から投与した APOE 蛋白質が虚血脳に対する保護効果を有することが示されているが、その分子機構は明らかになっていない。各種想定される因子の中でも、興奮性アミノ酸毒性、酸化ストレス、アポトーシスがその脆弱性を規定する因子として有力視されている (6)。われわれは、これまでにマウス7系統での両側総頸動脈閉塞による虚血発症頻度の違いを明らかにし (7)、C57BL/6 系統マウスを用いた両側総頸動脈閉塞再灌流による一過性前脳虚血モデルの確立 (8)、マウス脳神経細胞の虚血に対する部位別脆弱性に違いについて明らかにしてきた (9)。また確立したモデルを用いて BCL-2 過剰発現マウスを用いて一過性前脳虚血モデルを作成し、虚血性神経細胞死へのアポトーシスの関与を明らかにしてきた (10)。マウス中大脳動脈閉塞モデルにおいては梗塞中心部、辺縁部での BCL-2 関連遺伝子の発現を解析することから、虚血辺縁部でのアポトーシスの関与を明らかにしてきた (11)。脳梗塞の進展には神経細胞の脆弱性以外に微小循環障害、組織に集積する炎症細胞の増悪因子としての寄与も想定されるが、これらの点については、細

Protective Effect of Apolipoprotein E against Ischemic Neuronal Injury is mediated through Antioxidant Actions

Yanagihara, T., Kitagawa K., and Matsumoto M. (Correspondence: T. Yanagihara, takehiko@neuro.med.osaka-u.ac.jp)

胞接着因子 ICAM-1 の欠損動物を用いた検討 (12) や、梗塞進展に伴う炎症細胞、ミクログリア、マクロファージ、顆粒球などの集積を明らかにしてきた (13)。しかし神経細胞の選択的脆弱性に関しては細胞接着因子 ICAM-1 の関与が少ないことも一過性前脳虚血モデルを用いて明らかにしてきた (14)。本研究では、*in vivo* では我々の開発した一過性前脳虚血モデルを用い、また *in vitro* ではノックアウトマウスと野生型マウスから初代神経細胞培養系を作成し、APOE の虚血脳保護効果の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

2. 方法

動物：APOE 欠損マウスは Zhang らにより作成されたもの (15) を、C57BL/6 系統マウス (日本チャールズリバー) と少なくとも 6 世代交配したものを使用した。ヘテロ体同士の交配から生まれたホモ体同士、野生型同士を交配し、その子孫を実験に供した。

初代神経細胞培養系：ホモ体同士、野生型同士で得られた妊娠マウスから胎生 15-17 日目の胎児を取り出し、海馬、大脳皮質からパイン処理ののち、ポリエチレニミンでコーティングした 6 well 培養皿に胎児牛血清をふくむ培養液で希釈したのち約 5×10^5 cell/plate の密度で播種した。2 日後に B27 supplement (GIBCO BRL) を含む Neurobasal Medium (GIBCO BRL) に交換し、3-4 日後に抗酸化剤を含まない同培養液に交換し、24 時間後に実験に供した。上記の培養条件で、星状グリア細胞の含まれる割合は 15-20% であった。負荷実験は、培養後 6-7 日目の細胞の培養液に、直接グルタミン酸、過酸化水素、スタウロスポリンを加えて行った。グルタミン酸は最終濃度が $100 \mu\text{M}$ で 15 分間、過酸化水素は最終濃度が $10 \mu\text{M}$ で 15 分間、スタウロスポリンは最終濃度が 100nM で 1 時間の負荷を行い、そののち培養液を完全に交換して培養を続けたのち、24 時間後に神経細胞の生存度を LDH アッセイ (Cytotoxicity detection kit: Boehringer Mannheim) および免疫細胞染色により評価した。抗微小管結合蛋白質 2 (MAP2) 抗体を用いた免疫細胞染色は、コーティングした 2 チャンバースライドに播種した神経細胞に、グルタミン酸、過酸化水素、スタウロスポリン負荷を加えた 24 時間後に、4% パラフォルムアルデヒド液で 15 分間固定後、抗 MAP2 抗体 (1:100, Sigma) を 1 時間室温で反応させ、FITC 標識 2 次抗体を用いて、蛍光顕微鏡で観察した。

一過性前脳虚血モデル：12-16 週令の APOE 欠損マウス ($N=30$, $26.6 \pm 1.5 \text{ g}$) と野生型マウス ($N=30$, $24.1 \pm 2.1 \text{ g}$) を実験に供し、各群 15 匹ずつを普通飼育食とビタミン E 負荷食 (2 g/kg) で 2 ヶ月間飼育した。ハロセン吸入麻酔下に、頭蓋骨表面にレーザードブラ血流測定用のプローブを装着したうえで、両側総頸動脈を剥離、体温、頭蓋骨表面温度をおおの 36.0-37.5°C、35.0-36.5°C に保った上で、クリップにより閉塞、12 分間の虚血後クリップを開放した。両側総頸動脈閉塞 1 分後における脳皮質血流が、閉塞前の 12% 以下に低下した動物のみ (24 匹の野生型マウスと 22 匹の APOE 欠損マウス) を選別して実験に供した。血流再開通 15 分間はハロセン吸入麻酔下に脳血流、体温、頭蓋骨表面温度をモニター、維持し、その後内部温度を 35 度に保った保温チャンバーに動物を 2 時間おいたのち、室温下に戻した。虚血作成 7 日後に、マウスを深ネンブタール麻酔下に断頭し、摘出した脳を 5% 酢酸、95% アルコール液にて浸潤固定し、パラフィン包埋し、海馬を含む冠状切片を作成した。ヘマトキシリン・エオジン染色またはニッスル染色を施行したのち、海馬 CA1 領域から CA3 領域までを観察し、各セグメントでの組織学的重症度を 0: 細胞死を認めない、1: 50% 未満に細胞死を認める、2: 50% 以上に細胞死を認める、の 3 段階に分類し、 \langle 重症度 X 各重症度の占める長さの CA1-CA3 全体の長さに占める割合 \rangle を各重症度ごとに求め加算し、両側海馬での平均値を求めた。

3. 結果

神経細胞培養系：培養液交換だけでは、24 時間後の LDH 放出量は、野生型 $19.3 \pm 1.9\%$ 、APOE 欠損マウスでは $22.6 \pm 0.7\%$ で両群間に差を認めなかった。グルタミン酸負荷後、スタウロスポリン負荷後の LDH 放出量は両群間ともおおの 65%、70% 程度で特に差を認めなかったが、過酸化水素負荷後の LDH 放出量は、野生型 $42.2 \pm 10.6\%$ に比べ、APOE 欠損マウスでは $74.3 \pm 8.0\%$ と有意に高値を示した (図 1)。MAP2

免疫反応陽性の神経細胞数は、培養液交換だけに比べ、グルタミン酸負荷、過酸化水素負荷、スタウロスポリン負荷後に、減少していたが、APOE 欠損マウスでは野生型マウスに比べ過酸化水素負荷後の神経細胞数の減少が著明であった(図2)。

一過性前脳虚血モデル：野生型、APOE 欠損マウスとも、普通飼育食、ビタミンE 負荷食にかかわらず、虚血中の残存血流量は虚血前の5%以下で、血流再開後は70-130%に増加し、血流値に差を認めなかった。野生型は24匹中1匹、APOE 欠損マウスは22匹中3匹が血流再開後に死亡した。普通飼育食では、APOE 欠損マウス(組織学的重症度: 0.232 ± 0.229 ; N=9)は野生型マウス(組織学的重症度: 0.052 ± 0.071 ; N=12)に比べ、有意に神経細胞障害の程度が強かった(図3、図4)。ビタミンE 負荷では、野生型マウスではビタミンE 負荷で神経細胞死の軽減は見られなかったが(組織学的重症度: 0.053 ± 0.066 ; N=11)、APOE 欠損マウスではビタミンE 負荷により有意な神経細胞障害の軽減が観察された(組織学的重症度: 0.020 ± 0.033 ; N=10)。

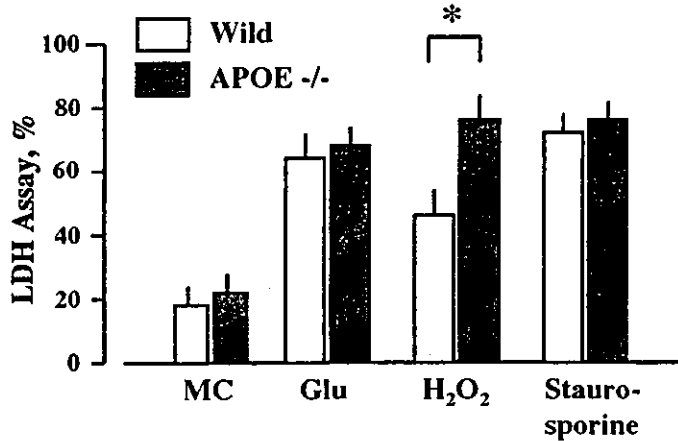


図1：興奮性アミノ酸毒性、酸化ストレス、アポトーシス負荷に対する野生型マウスとAPOE 欠損マウスの培養神経細胞の障害程度の比較。

興奮性アミノ酸毒性は、グルタミン酸(Glu, 100 μ M, 15分間)、酸化ストレスは過酸化水素(H₂O₂, 10 μ M, 15分間)、アポトーシスはスタウロスポリン(Staurosporine, 100 nM, 1時間)を添加する事により負荷し、培養液交換24時間後にLDHアッセイにより神経細胞障害の程度を評価した。対照として、培養液交換のみ(MC)の群を示している。

*P<0.05 between two types of mice

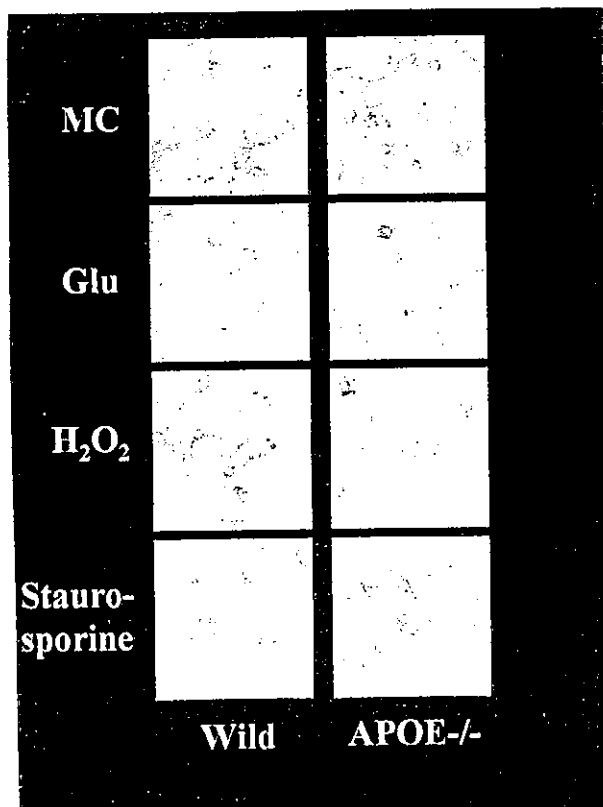


図2：興奮性アミノ酸毒性、酸化ストレス、アポトーシス負荷24時間後における野生型マウスとAPOE 欠損マウスの培養神経細胞の抗微小管結合蛋白質2(MAP2)抗体を用いた免疫細胞染色像。

培養液交換のみ(MC)のものに比しグルタミン酸負荷(Glu)、過酸化水素負荷(H₂O₂)、スタウロスポリン負荷(Staurosporine)の後では、MAP2免疫反応陽性の神経細胞数の減少が見られるが、特にAPOE 欠損マウスでは、過酸化水素負荷後に神経細胞数が顕著に減少している。

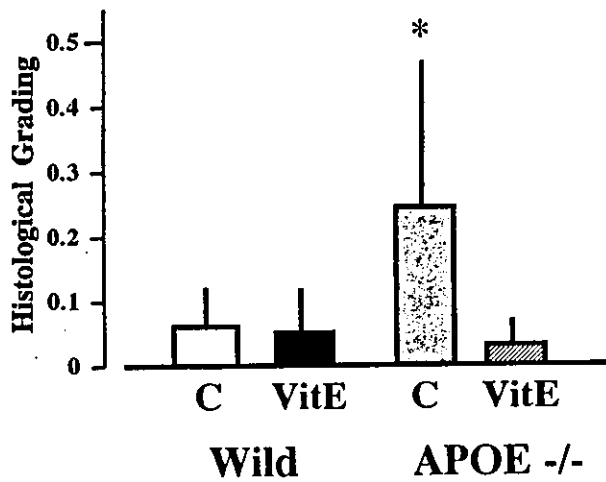


図3：一過性前脳虚血再灌流後の野生型、APOE 欠損マウスの海馬神経細胞死に対するビタミンE 負荷食の効果。

野生型マウス (wild)、APOE 欠損マウス(APOE^{-/-})を普通食(C)またはビタミンE 負荷食(VitE)にて2ヶ月間飼育した後、12分間の両側総頸動脈閉塞再灌流し、7日後に海馬CA1-CA3 領域の神経細胞死の程度を半定量的に評価した。普通食では APOE 欠損マウスは野生型マウスに比べ、有意に強い神経細胞障害を示したが、ビタミンE 負荷により、顕著な神経細胞保護効果が観察された。

*p<0.05 between other three groups.

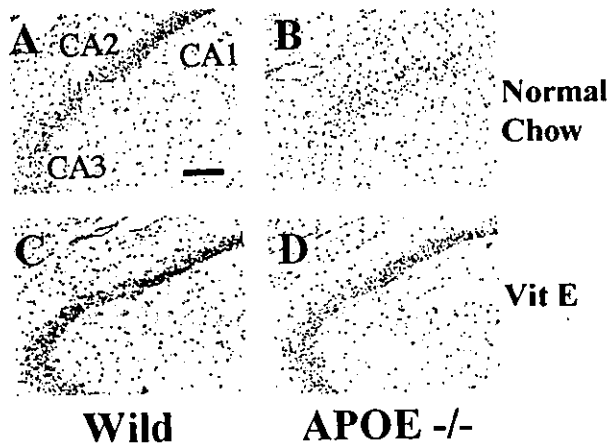


図4：一過性前脳虚血再灌流後の海馬CA1-CA3 領域における神経細胞障害。

普通食(Normal chow)では、野生型マウス(wild)では CA2 領域に神経細胞死が散見されるが、APOE 欠損マウス(APOE^{-/-})では CA1-CA3 領域にわたって広範な神経細胞障害を認める。ビタミンE 負荷 (VitE) 後では、野生型、APOE 欠損マウスとも、CA2 領域に少数の神経細胞死が散見される。

4. 考察

APOE 蛋白質は、脳虚血侵襲後、星状グリア細胞や変性した神経細胞にその発現がみられ (16)、内因性に存在する APOE 蛋白質の虚血脳保護効果は、APOE 欠損マウスを用いた検討から明らかにされている (1-5)。神経細胞の虚血に対する選択的脆弱性を規定する要因として、興奮性アミノ酸毒性、酸化ストレス、アポトーシスが取り上げられているので、APOE 欠損マウスと野生型マウスから初代神経細胞培養系を作成し、APOE 欠損マウス由来の神経細胞ではどのような侵襲に脆弱であるかを検討した。スタウロスポリンは protein kinase A の阻害薬で、神経細胞を含む各種の細胞にアポトーシスを誘導する刺激である。今回の検討では、グルタミン酸刺激、スタウロスポリン負荷に対する脆弱性は、野生型、APOE 欠損マウス両群間で差を認めなかった。これは Lendon ら (17) が、外因性に加えた APOE が、グルタミン酸、スタウロスポリン負荷による神経細胞死を抑制できなかったと報告しているのと一致している。しかし過酸化水素添加後の神経細胞障害は、APOE 欠損マウスで野生型に比べ明らかに顕著であった。これまでの脳虚血モデルを用いた検討で APOE の脳保護効果を示しているのは、すべて血流再開時にフリーラジカルが産生する再灌流モデルであったのも、APOE 蛋白質のフリーラジカルスカベンジャーとしての重要性を示唆している。Miyata ら (18)、Pedersen ら (19) は、APOE のアイソフォームに特異的な抗酸化作用の存在を報告している。次に、脳虚血モデルでの APOE のフリーラジカルスカベンジャーとしての役割を検証するために、ビタミン E 負荷の虚血性神経細胞死に及ぼす影響について野生型と APOE 欠損マウスで比較した。ビタミン E 負荷食は、脳を含む全身臓器において抗酸化作用を増強することが明らかになっている (20)。普通飼育食で、APOE 欠損マウスが野生型マウスに比べ神経細胞障害の程度が強いのは、これまでの報告 (2, 3) と合致していたが、ビタミン E 負荷により、APOE 欠損マ

ウスにおいてのみ神経保護効果がみられたのは、APOE 欠損マウスの神経細胞は、フリーラジカル侵襲に脆弱で、ビタミン E 負荷により抗酸化活性が補強されたと解釈される。Ramassamy ら (21) は、APOE 欠損マウスでは、脳内のビタミン E 含量が低下していることを報告している。本研究では、培養神経細胞を用いた系では、興奮性アミノ酸毒性をグルタミン酸負荷で、酸化ストレスを過酸化水素負荷で、アポトーシスをスタウロスポリン負荷を用いて解析した。しかし、興奮性アミノ酸毒性やアポトーシスによる神経細胞死に際しては、フリーラジカルが関与していることを示す報告 (22, 23) もなされており、また酸化ストレスが細胞内の酸化還元状態を変化させることにより、各種の転写因子を活性化させ、その一部はアポトーシスに寄与していることも報告されている (24)。本研究結果を解釈する上で、これらの要素が相互に関連する可能性について考慮に入れる必要がある。我々は、軽度な虚血侵襲により海馬 CA1 領域だけが死滅した状態では隣接する海馬 CA3 領域でも反応性星状グリア細胞の発現が2週間以上持続し、その間、虚血耐性効果が発現していることを明らかにしている (25) が、虚血後の反応性グリア細胞での APOE 蛋白質の発現が、隣接する神経細胞に保護効果を示しうることが推察される。虚血ストレスに対する神経細胞の遺伝子発現 (26) を介した応答以外に、APOE 蛋白質などを介したグリア細胞との相互作用が脳の虚血に対する防御機構として存在するものと考えられる。

参考文献

1. Laskowitz DT, Sheng H, Bart R, et al. Apolipoprotein E deficient mice have increased susceptibility to focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997;17: 753-758
2. Sheng H, Laskowitz DT, Mackensen G, et al. Apolipoprotein E deficiency worsens outcome from global cerebral ischemia in the mouse. *Stroke* 1999;30:1118-1124.
3. Horsburgh K, Kelly S, McCulloch J, et al. Increased neuronal damage in apolipoprotein E-deficient mice following global ischemia. *Neuroreport* 1999;10:837-841.
4. Horsburgh K, McCulloch J, Nilsen M, et al. Intraventricular infusion of apolipoprotein E ameliorates acute neuronal damage after global cerebral ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;20:458-462.
5. Sheng H, Laskowitz ST, Bennet E, et al. Apolipoprotein E isoform-specific differences in outcome from focal ischemia in transgenic mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:361-366.
6. Dirnagl U, Iadecolla C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci* 1999;22:391-397.
7. Yang G, Kitagawa K, Matsuhita K, et al. C57BL/6 strain is most susceptible to cerebral ischemia following bilateral common carotid occlusion among seven mouse strains: selective neuronal death in the murine transient forebrain ischemia. *Brain Res* 1997;752:209-218.
8. Kitagawa K, Matsumoto M, Yang G, et al. Cerebral ischemia after bilateral carotid artery occlusion and intraluminal suture occlusion in mice: Evaluation of the patency of the posterior communicating artery. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:570-579.
9. Yang G, Kitagawa K, Ohtsuki T, et al. Regional difference of neuronal vulnerability in the murine hippocampus after transient forebrain ischemia. *Brain Res* 2000;870:195-198.
10. Matsuhita K, Matsuyama T, Kitagawa K, et al. Alterations of BCL-2 family proteins precede cytoskeletal proteolysis in the penumbra, but not in infarct core following focal cerebral ischemia in mice. *Neuroscience* 1998;83:439-448.
11. Kitagawa K, Matsumoto M, Tsujimoto Y, et al. Amelioration of hippocampal neuronal damage after global ischemia by neuronal overexpression of BCL-2 in transgenic mice. *Stroke* 1998;29:2616-2621.
12. Kitagawa K, Matsumoto M, Mabuchi T, et al. Deficiency of intercellular adhesion molecule 1 attenuates

- microcirculatory disturbance and infarction size in focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:1336-1345.
13. Mabuchi T, Kitagawa K, Ohtsuki T, et al. Contribution of micoglia/macrophages to expansion of infarction and response of oligodendrocytes after focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 2000;31:1735-1743.
 14. Kitagawa K, Matsumoto M, Ohtsuki T, et al. Deficiency of intercellular adhesion molecule 1 fails to mitigate selective neuronal death after transient global ischemia. *Brain Res* 1999;847:166-174.
 15. Zhang SH, Reddick RL, Piedrahita JA, et al. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. *Science* 1992;258:468-471.
 16. Hall ED, Oostveen JA, DunnE, et al. Increased amyloid protein precursor and apolipoprotein E immunoreactivity in the selectively vulnerable hippocampus following transient forebrain ischemia in gerbils. *Exp Neurol* 1995;135:17-27.
 17. Lendon CL, Han BH, Salimi K, et al. No effect of apolipoprotein E on neuronal cell death due to excitotoxic and apoptotic agents in vitro and neonatal hypoxic ischemia in vivo. *Eur J Neurosci* 2000;12:2235-2242.
 18. Miyata M, Smith JD. Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects of cytotoxicity by oxidative insults and β -amyloid peptides. *Nat Genet* 1996;14:55-61.
 19. Pedersen WA, Chan SL, Mattson MP. A mechanism for the neuroprotective effect of apolipoprotein E: isoform-specific modification by the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal. *J Neurochem* 2000;74:1426-1433.
 20. Pratico D, Tangirala RK, Rader DJ, et al. Vitamin E suppresses isoprostane generation in vivo and reduces atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Nat Med* 1998;10:1189-1192.
 21. Ramassamy C, Krzywkowski P, Averill D, et al. Impact of apoE deficiency on oxidative insults and antioxidant levels in the brain. *Mol Brain Res* 2001;86:76-83.
 22. Patel M, Day BJ, Crapo JD, et al. Requirement for superoxide in excitotoxic cell death. *Neuron* 1996;16:345-355.
 23. Krohn AJ, Preis E, Prehn JHM. Staurosporine-induced apoptosis of cultured rat hippocampal neurons involves caspase-1-like proteases as upstream initiators and increased production of superoxide as a main downstream effector. *J Neurosci* 1998;18:8186-8197.
 24. Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;21:2-14.
 25. Kitagawa K, Matsumoto M, Ohtsuki T, et al. Extended neuronal protection induced after sublethal ischemia adjacent to the area with delayed neuronal death. *Neuroscience* 2000;96:141-146.
 26. Yagita Y, Kitagawa K, Taguchi A, et al. Molecular cloning of a novel member of the HSP110 family of genes, ischemia-responsive protein 94 kDa (irp94), expressed in rat brain after transient forebrain ischemia. *J Neurochem* 1999;72:1544-1551.

様々な視点からみた脳卒中臨床評価システム

Case 21 Rank: /27

脳卒中における臨床評価システムの特殊性と問題点

松本 昌泰

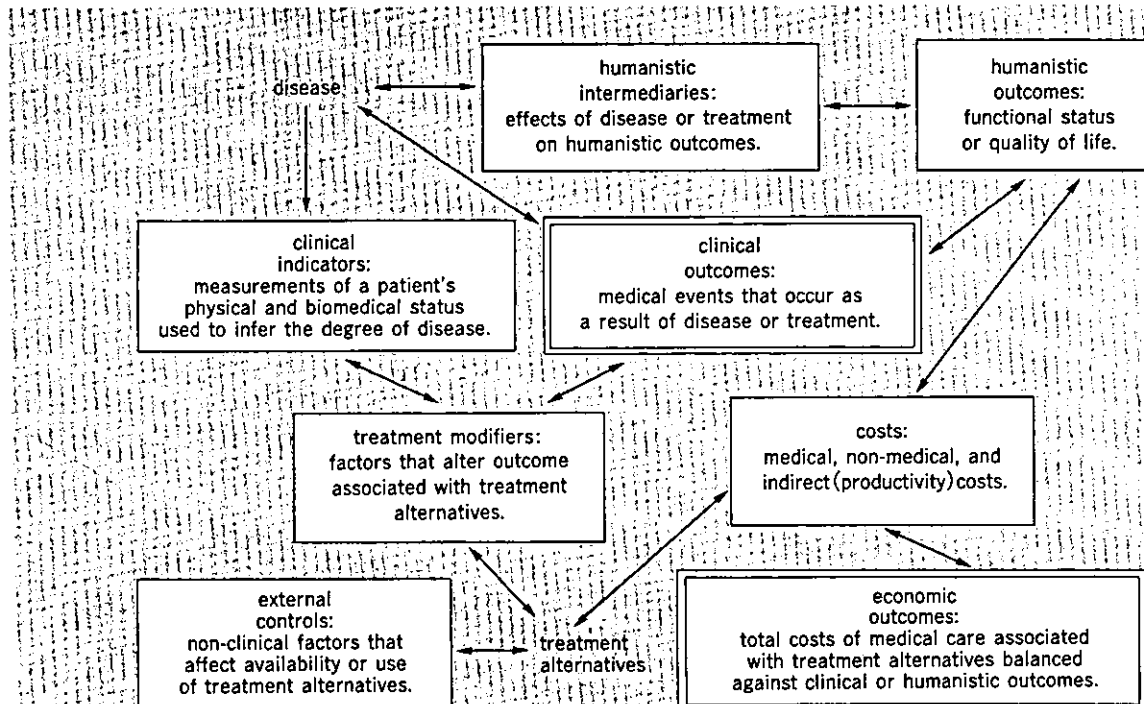
はじめに

未曾有の少子高齢化社会に突入しつつあるわが国にとって、限られた医療福祉関連の財源を如何に効率よく配分、運用するかは死活的意義を有する課題となってきた。わが国に先行して高齢化社会に突入してきた欧米諸国では、各種の疾病に対する治療や診断法に関しても、早くから医療経済学的視点からの分析がなされてきている。なかでも脳卒中は、わが国を含む先進諸国の殆どで3大死因の一角を占めるのみならず、その数々の後遺症により高齢者のQOLを障害する最大の原因となっており、その対策に要する費用は極めて大きい。このため、脳卒中に関連した医療経済学的研究の報告も急増しつつある¹⁾。米国にお

まつもと まさやす 広島大学教授/大学院病態探究医科学脳神経内科(第3内科)

る最近の試算によれば、脳卒中発症後1年間に要する医療、介護を含めた費用は年間300億ドル(患者1人あたり約5万ドル)と推定されており²⁾、わが国においても脳卒中に要する費用は全医療費の約9%を占めており既に第1位となっている。今後のさらなる高齢者の増加が、脳卒中発症増加を招く主要因となることは火を見るよりも明らかであり、その総合的対策の構築はまさに急務といえる。

特にDRGs-PPS(Diagnosis Related Groups-Prospective Payment System)やCritical Pathwayなどが急速に導入されつつある今日、医療行為の適切な評価基準の確立は極めて重要な課題である。しかしながら、脳卒中は極めて多様な病態からなり、その治療に際しても病期、病型、重症度の考慮が不可欠であるごとく、脳卒中に対する医療的介入の効果の全てをカバーしうる評価法は存在し得な



ECHO モデルの概念図

経済的 economic、臨床的 clinical および人道的効果 humanistic outcome の相互関係を示す。(Kozma ら, 1993³⁾より)

表 1 急性期脳卒中中の臨床試験(IIまたはIII相試験)に採用されたエンドポイント(Duncanら¹²⁾より)

臨床試験	一次エンドポイントとして採用
n	n
病態生理学的指標(血圧, 血液凝固系, Ht, 再開通の有無, 程度など)	9
死亡率	34
障害度(mMathew scale, NIHSS, SSS など)	42
活動度(Barthel Index, Rankin Scale など)	39
社会参加(かつての handicap)	0
QOL/健康状態	1
組み合わせスコアまたはグローバルスコア	4

mMathew scale = modified Mathew scale, NIHSS = NIH Stroke Scale, SSS = Scandinavian Stroke Scale (この表は内容をわかりやすくするため一部改変を加えた)

い。本稿では、このような医療経済学的視点から求められる医療行為の効果判定法についてまとめるとともに、脳卒中患者の予後に大きな影響を及ぼすと考えられている急性期の治療法の効果を評価する方法の問題点に触れ、さらに最近脳卒中学会の Stroke Scale 委員会により公表されてきた各種脳卒中スケールの意義、なかでも本スケールの作成に際して新たに導入された conjoint analysis の意義についてまとめる。

医療行為の評価法

一般に、診断・治療などの医療行為の効果の評価には多面的な視点が要求され、医療者のみによる評価では不十分である。その意味で、Kozma ら⁹⁾により提唱された Economic, Clinical and Humanistic Outcomes (ECHO) モデル(図)は、医療行為の成果を評価する際の基本的モデルと考えられている。

経済的效果 economic outcomes はある医療行為により発生する直接的、間接的およびその他の経費と定義されており、実際の治療費や治療のモニターに要する検査費用、離職期間や副作用治療に要する経費などが含まれる。脳卒中の場合にはリハビリテーションや介護などの経費も含まれることになる。臨床的效果 clinical outcomes はある医療行為により得られる医学的パラメーターの変化を意味し、NIH Stroke Scale や Japan Stroke Scale (JSS) などの脳卒中評価スケール、神経学的後遺症の有無や程度、血圧値の変化、副作用の有無などにより評価される。一方、人道的効果 humanistic outcomes はある医療行為が患者の機能状態や QOL へ及ぼす効果を意味し、ADL、社会での活動レベルや満足度などにより評価される。

一般に、臨床家は臨床的效果を重視し、患者は人道的効果や経済的效果に関心を払うが、限られた医療費で最適の効果をj得るためには、ある医療行為による効果をその相互

関係を含め多面的に評価する必要がある^{4,5)}。

急性期脳卒中中の臨床評価法の課題

脳卒中における医療行為の評価では、ECHO の全ての評価が極めて重要であるが、これまでの急性期脳卒中を対象とした治療法に関する臨床的研究の殆どは臨床効果のみを評価している。従来より脳卒中による障害は 1980 年の WHO による国際障害分類(International Classification of Impairments, Disabilities, and Handicaps ; ICIDH) に基づき impairment, disability, handicap に分けて論じられてきたが、最近の改訂により disability は活動度(activity), handicap は社会参加 participation へと、より前向きの言葉に置き換えられてきている⁶⁾。脳卒中の評価スケールは、その評価項目を含めこの階層ごとに区別されることが必要であり、それぞれのスケールの妥当性、信頼度、感度などについても検証を経たものが用いられなければならない^{7,8)}。

また、脳卒中への治療的介入の結果をどのようなタイミングで評価するのも極めて重要な課題である。脳卒中の臨床症候や病態は極めて多様であり、生存者での臨床症候の回復の経過も変化に富んでいるため、評価のタイミングにより結果が大きく異なることも予測される。したがって、上記の階層を代表する適切なスケールを適切なタイミングで用いることが極めて重要となる。

たとえば、NINDS rtPA トライアル⁹⁾を受けて欧州で実施された ECASS (European Cooperative Acute Stroke Study) I では、ITT 解析で rtPA の有効性が証明されなかったが、NINDS rtPA トライアルで採用された薬効判定法と同様な判定法を用いて実施された事後解析では、有効な結果が得られている¹⁰⁾。また、引き続いて実施された ECASS II でも rtPA による血栓溶解療法の有効性を確認できなかったが、有効性の判定に採用された改変 Rankin スケールのカットオフ点を変更した事後の再解析では、推計学的に有意な予後改善効果が得られることが確認されている¹¹⁾。つまり、臨床効果を評価する最適の方法が採用されない場合には、有効な薬物も無効と判定されることがあり得ることを象徴する事例といえる。そこで、Duncan ら¹²⁾は、過去 20 年間に急性期の脳卒中を対象に実施された臨床第 II および III 相のランダム化臨床試験計 51 トライアル (57,214 例) を子細に調査して、効果判定に用いられた指標やその判定のタイミングなどについても調べ、急性期脳卒中に有効な候補薬物の臨床試験を企画する際に、どのような効果判定基準をどの時期に用いるのが適切と考えられるかについて勧告案を策定することを試みている。その結果、表 1 に示した如く各種の指標が効果判定に用いられており、また一次エンドポイントとしては活動度が最も多くの

臨床試験で採用されていたが、臨床試験ごとに評価法やカットオフポイントも大きく異なることが明らかとなった。また、一次エンドポイントで有効性が証明された試験は51試験中21試験であり、事後解析でカットオフ点を交えれば有効となる試験もあることが明らかとされている。さらに、これらの検討を通じて脳卒中急性期の臨床試験において効果判定法を選ぶ際に考慮すべき9項目に及ぶ勧告案(表2)が提示されており、今後の臨床試験のプロトコル作成時に大いに参考になるものと思われる。

**conjoint analysis 導入の意義：
JSS から international stroke scale へ**

日本脳卒中学会の stroke scale 委員会により作成されてきた JSS をはじめとした各種のスケールの確立は、まさに表2にまとめられた勧告案の実現に欠かせないものといえ、脳卒中の新たな治療法を開発する上でも極めて重要なステップであったといえよう。本委員会による脳卒中スケール確立過程については、天野による総説¹³⁾に詳しく述べられているが、なかでも後藤文男委員長により導入された統計手法である conjoint analysis は、脳卒中の臨床評価に際して問題となる神経症状/症候の多様性の問題を克服する上で極めて価値が高い手法といえる。conjoint analysis はマーケットリサーチの分野では従来より広く用いられていた統計的手法であり、ある商品が売れるかどうかは商品固有の多様な要因(値段・ブランド・色・形・機能など)と消費者の多様な欲求や条件(年齢層・職種・年俸など)などを各項目について、重み付けしながら解析するために開発されたものである。脳卒中ではその重症度も医療関係者・患者・介護者・社会状況などによりその評価基準が異なる可能性があり、その意味でも脳卒中スケールの作成に際しての conjoint analysis の導入は世界で初めてであり、他の多様な要素を含む臨床的課題(老年者の機能障害、痴呆症など)の総合的評価法を作成する場合でも応用可能な画期的手法の導入であるといっても過言ではない。診断名が統一されてこそ、真の国際比較が可能のように、脳卒中の重症度に関しての臨床評価法についても標準化された共通語なくしては、真の国際比較は不可能である。その意味でも、2000年に東京で開催された脳卒中スケールに関する国際会議でも、JSSは高く評価されており、同様な手法を用いて作成される世界の共通語としての international stroke scale が作成されることも夢物語ではなくなっている。世界の脳卒中の臨床研究に大きなインパクトを与えうる JSS が、今後の日本の臨床現場で脳卒中の重症度を表す共通語として広く活用されることを、JSS の作成過程に一貫して研究協力者として参加してきた研究者の一人として心より期待している。

表2 脳卒中の臨床試験における効果判定法選別に際し考慮すべき事項(勧告案) (Duncanら¹²⁾より作成)

- 1) 一次エンドポイントの評価は活動度(ADL)のレベルでなされるべきであり、これには基本的 basic ADL (BADL)のみならず手段的 instrumental ADL (IADL)や、より高度の移動能の評価を含むべきである。
- 2) 障害度を評価するスケールは、薬物が効果を発揮すると想定される神経学的症状/症候の回復への影響を評価するためにも必須である。
- 3) 感情障害の評価も考慮されねばならない。ただし、認知機能障害や失語などのために評価が困難な例も多く、一次エンドポイントには不向きである。
- 4) 用いる全ての評価スケールは、信頼性・妥当性・感受性などの psychometric properties について脳卒中患者例での検証を経た有用性の確立したものでなければならない。
- 5) 回復の定義は単なる二分法(あり/なし)ではなく、ノンパラメトリックの統計手法を用いて障害度のシフトの評価によりなされるべきである。
- 6) スケールの選別に際して、研究対象症例の自然回復経過が考慮されねばならない。
- 7) 一次エンドポイントを発症後6ヵ月後にする必要がある(特に、重症例を含むトライアルでは)。
- 8) ベースラインの情報として、糖尿病の有無、体温、血糖値、うつ状態の有無、社会的支援状況などのエンドポイントに影響を及ぼす要因に関するデータを充実させておくことが必須である。
- 9) WHO-ICIDH モデルに基づいて、脳卒中患者に見られる障害、脳卒中の重症度に応じた活動度を評価可能で、脳卒中の臨床効果判定に関して新たに浮上してくる問題の解決が可能な脳卒中特有の評価法を開発する新しいイニシアチブが必要である。

文 献

- 1) Evers SMAA, et al. Economic evaluation in stroke research. *Cerebrovasc Dis* 2001; 11: 82-91.
- 2) Matchar DB, et al. The stroke prevention policy model: Linking evidence and clinical decisions. *Ann Intern Med* 1997; 127: 704-11.
- 3) Kozma CM, et al. Economic, clinical, and humanistic outcomes: A planning model for pharmacoeconomic research. *Clin Therap* 1993; 15: 1121-32.
- 4) Weinstein MC, Stason WB. Functions of cost-effectiveness analysis for health and medical practices. *New Engl J Med* 1997; 296: 716-21.
- 5) Kaste M, et al. Economic burden of stroke and the evaluation of new therapies. *Public Health* 1998; 112: 103-12.
- 6) World Health Organization. ICIDH-2: International classification of functioning and disability, beta-2 draft, short version. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1999.
- 7) Roberts L, Counsell C. Assessment of clinical outcomes in acute stroke trials. *Stroke* 1998; 29: 986-91.
- 8) Lyden PD, Lau GT. A critical appraisal of stroke evaluation and rating scales. *Stroke* 1991; 22: 1345-52.
- 9) NINDS rtPA Stroke Study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 1995; 333: 1581-7.
- 10) Hacke W, et al. Dichotomized efficacy end points and global end point analysis applied to the ECASS intention-to-treat data set: post hoc analysis of ECASS I. *Stroke* 1998; 29: 2073-5.
- 11) Hacke W, et al. Randomized double-blind placebo-controlled trial of thrombolytic therapy with intravenous alteplase in acute ischaemic stroke (ECASS II): Second European-Australasian Acute Stroke Study Investigators. *Lancet* 1998; 352: 1245-51.
- 12) Duncan PW, et al. Outcome measures in acute stroke trials: A systematic review and some recommendations to improve practice. *Stroke* 2000; 31: 1429-38.
- 13) 天野隆弘. 脳卒中評価スケール. *神経研究の進歩* 2001; 45: 498-509.

7. 虚血性脳卒中急性期における Ca-antagonists の効果

松本 昌泰

虚血性神経細胞死の分子機序として最も注目を集めてきた仮説が「グルタミン酸-Ca 仮説」(図 1)である¹⁾。この仮説に基づいて、脳保護薬としての Ca 拮抗薬の可能性が実験的脳虚血モデルを用いて検討され、虚血後の本薬の投与による梗塞巣の縮小効果や神経症候の改善効果が報告されてきた²⁾。さらに、実際の臨床試験でもその有効性を示唆する

報告³⁾がなされて以来、多くの臨床試験が実施されてきたが、その有効性は確認されていない。本稿では、紙面の制約もあり、個々の臨床試験の詳細についてはその解説を省略し、最近報告された Cochrane Stroke Group の協力の下に実施されたメタ解析の結果⁴⁾を中心に紹介する。

この解析では、急性期の虚血性脳卒中に対する電位依存性 Ca チャネルの拮抗薬を用いた臨床試験 47 件の内、① 真のランダム化がなされているか、② 発症 14 日以内のラ

まつもと まさやす 大阪大学助教授/大学院病態情報内科学・神経機能医学

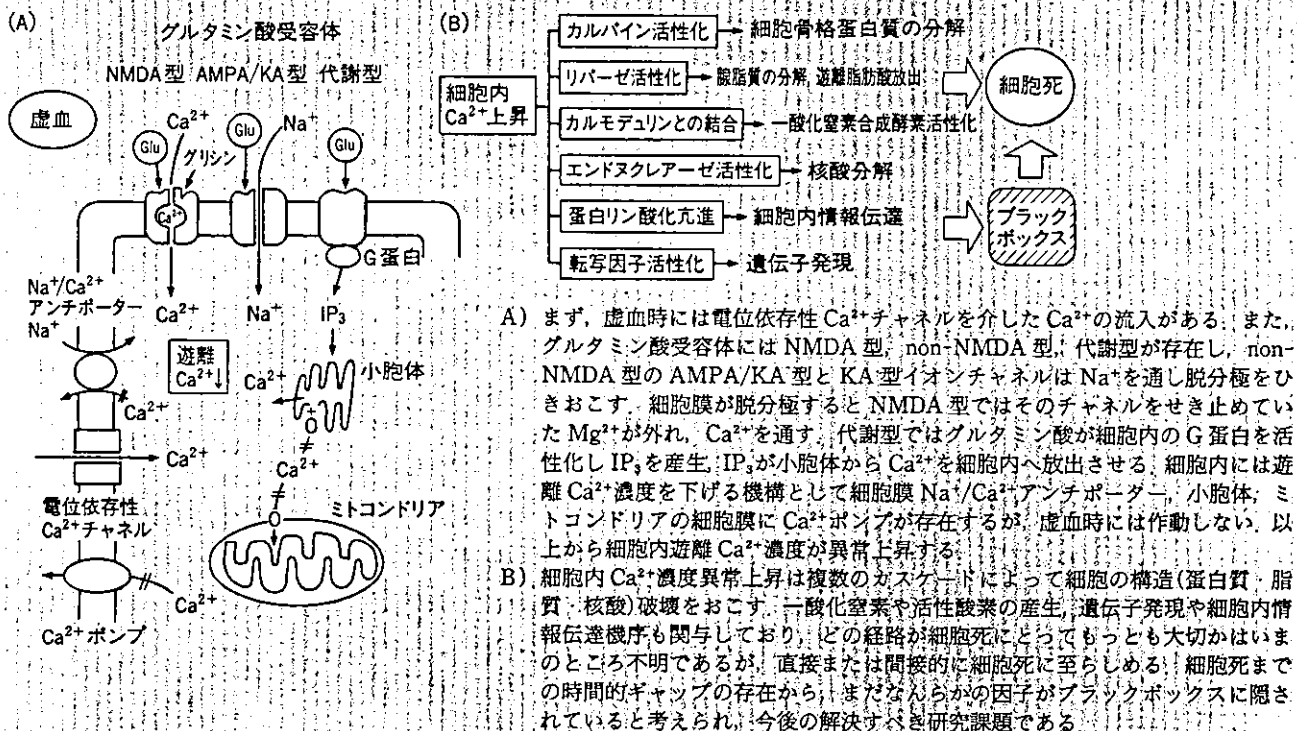


図 1. 虚血に伴うグルタミン酸-Ca 仮説を示す模式図 (松本¹⁾より)

A) 虚血により放出されたグルタミン酸による細胞内 Ca イオンの上昇と; B) 細胞内 Ca イオン上昇から細胞死までの過程を示す。