

図1
心原性脳塞栓症

心房細動の既往があり右片麻痺、失語で突発発症した74歳の女性症例である。CTでは左前頭葉から頭頂葉にかけて広範な低吸収域(図A中矢印)を認める。経食道心エコーで、左心耳に血栓(図B中矢印)の存在が確認された。

じやすく積極的な抗凝固療法または抗血小板療法が1次予防に用いられることが多い。本病型は高齢者に多いが、若年者でも基礎心疾患を有する場合に発症し、若年者脳梗塞でまず第1に考えるべき疾患でもある。

図1には心房細動の既往があり突発する右片麻痺、失語で発症した症例を示す。また、下肢静脈血栓症などにより発生した血栓が、心臓内の右左シャント(卵円孔開存など)を有する症例において、肺循環を介さず大動脈に流入して脳動脈を栓塞する場合を奇異性脳塞栓症と呼んでいる。心臓内の血栓の検索、心臓内シャントの有無の検索には、通常の経胸壁心エコーでは不十分であり、経食道心エコー検査が必要となる。また本症例では再発の可能性を予測する上で、TAT、D-dimer、fragment F1+2などの凝固線溶系分子マーカーの測定が有用であり、これらの値が高値を示す場合、心腔内血栓を持つものが多く、再発の可能性も高い。

アテローム血栓性脳梗塞

脳を灌流する動脈のアテローム硬化を基盤として発症するので、中高年以上で動脈硬化危険因子である高血圧、糖尿病、高脂血症、喫煙を有し、虚血性心疾患や閉塞性動脈硬化症などの合併も多くみられる。臨床経過としては、一過性脳虚血発作(trans-

sient ischemic attack, TIA)を前駆する場合が多く、急性期には意識障害、皮質症状(失語、失行、失認、半側空間無視)や同名半盲を伴うことが多く、ラクナ梗塞との鑑別上重要である。NINDS分類の3つの発症メカニズム、血栓性、塞栓性、血行力学性の機序が考えられる。しかし個々の症例で必ずしも単一のメカニズムではなく複数の要因が絡んでいると考えられる場合も多い。

脳を灌流する主幹動脈でアテローム硬化の好発部位は、頸動脈分岐部、内頸動脈サイフォン部、中大脳動脈水平部、脳底動脈、椎骨動脈起始部などである事が知られている。頸動脈分岐部の評価には頸動脈超音波検査が非侵襲的かつ有用である。また大動脈弓部も動脈硬化の好発部位であり、その精査には経食道心エコーが必要である。以下に各発症メカニズムと代表的な症例を呈示した上で解説する。

1. 血栓性メカニズム アテローム硬化病変が基盤に存在し、その上に形成された血栓が血管を閉塞することによって末梢の灌流領域に虚血を引き起こす。脳血栓症の特徴とされる症状の段階的増悪は本メカニズムに起因する場合が多い。またBranch atheromatous diseaseは中大脳動脈水平部や脳底動脈など穿通動脈枝が分岐している部位でアテローム硬化がある場合に、穿通動脈開口



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。

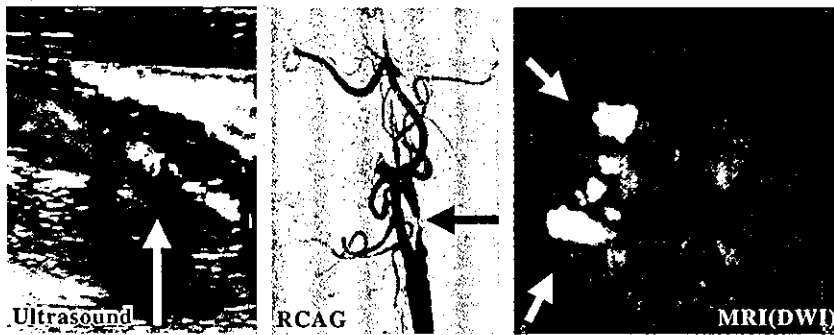


図3
アテローム血栓性脳梗塞(塞栓性メカニズム)

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

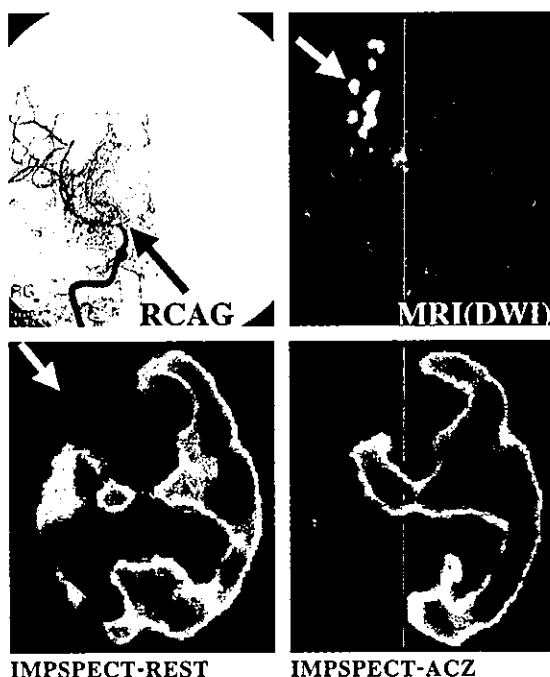


図4 アテローム血栓性脳梗塞(血行力学性メカニズム)

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(IMPSPECT)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、頭蓋内外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

<Special Article> 脳梗塞の病型と発症機序

北川 一夫 松本 昌泰
堀 正二*

はじめに●

脳血管障害の臨床病型分類として、現在国際的にもっとも広く用いられているのは National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS)分類III (Table 1)¹⁾であり、その中で脳梗塞は臨床的カテゴリーとして、アテローム血栓性脳梗塞、心原性脳塞栓症、ラクナ梗塞、その他に分類され、発症機序のメカニズムとしては、血栓性、塞栓性、血行力学性の3つが想定されている (Fig. 1).

本稿では、各病型について代表的な症例を呈示しつつそのメカニズムを解説する。

アテローム血栓性脳梗塞●

脳を灌流する動脈のアテローム硬化を基盤として発症するため、中高年以上で動脈硬化危険因子である高血圧、糖尿病、高脂血症、喫煙を有している場合が多い。NINDS 分類の3つの発症メカニズムである血栓性、塞栓性、血行力学性のすべてが考えられる¹⁾。またこれ以外に、branch atheromatous disease²⁾ (メカニズムは血栓性)、大動脈原性³⁾ (メカニズムは塞栓性) などの発症形式もある。しかし個々の症例で、必ずしも単一のメカニズムではなく複数の要因が絡んでいると考えられる場合も多い。

脳を灌流する主幹動脈でアテローム硬化の好発部位は、頸動脈分岐部、内頸動脈サイフォン部、中大脳動脈水平部、脳底動脈、椎骨動脈起始部などが知られている⁴⁾。頸動脈分岐部の評価には頸

Table 1. 脳梗塞の分類 (NINDS 分類III)

臨床病型	1. アテローム血栓性脳梗塞 (atherothrombotic) 2. 心原性脳塞栓症 (cardioembolic) 3. ラクナ梗塞 (lacunar) 4. その他
発症機序	1. 血栓性 (thrombotic) 2. 塞栓性 (embolic) 3. 血行力学性 (hemodynamic)

動脈超音波検査が非侵襲的かつ有用である。また、大動脈弓部で総頸動脈、腕頭動脈、鎖骨下動脈を分岐する部位も動脈硬化の好発部位である。

以下に各発症メカニズムと代表的な症例を呈示したうえで解説する (Fig. 1)。本病型ではアテローム硬化が基盤にあるため、虚血性心疾患で昨今注目を集めている炎症機転の関与が想定される⁵⁾。われわれも、脳を灌流する動脈の中でもっともアテローム硬化の好発する頸動脈分岐部で、高感度 CRP 測定値が既知の危険因子とは独立して動脈硬化の進展に関連していることを明らかにしている⁶⁾。

1. 血栓性メカニズム

アテローム硬化病変が基盤に存在し、そのうえに形成された血栓が血管を閉塞することによって末梢の灌流領域に虚血を引き起こす。血栓形成はプラーク破綻、プラーク内出血などに起因する。脳血栓症の特徴とされる症状の段階的増悪は、本メカニズムに起因する場合が多い。また、branch atheromatous disease²⁾は、中大脳動脈水平部や脳底動脈など穿通動脈枝が分岐している部位でアテローム硬化がある場合に、血栓形成などで親動

* K. Kitagawa (医学部講師), M. Matsumoto (助教授), M. Hori (教授) : 大阪大学大学院医学系研究科病態情報内科学。

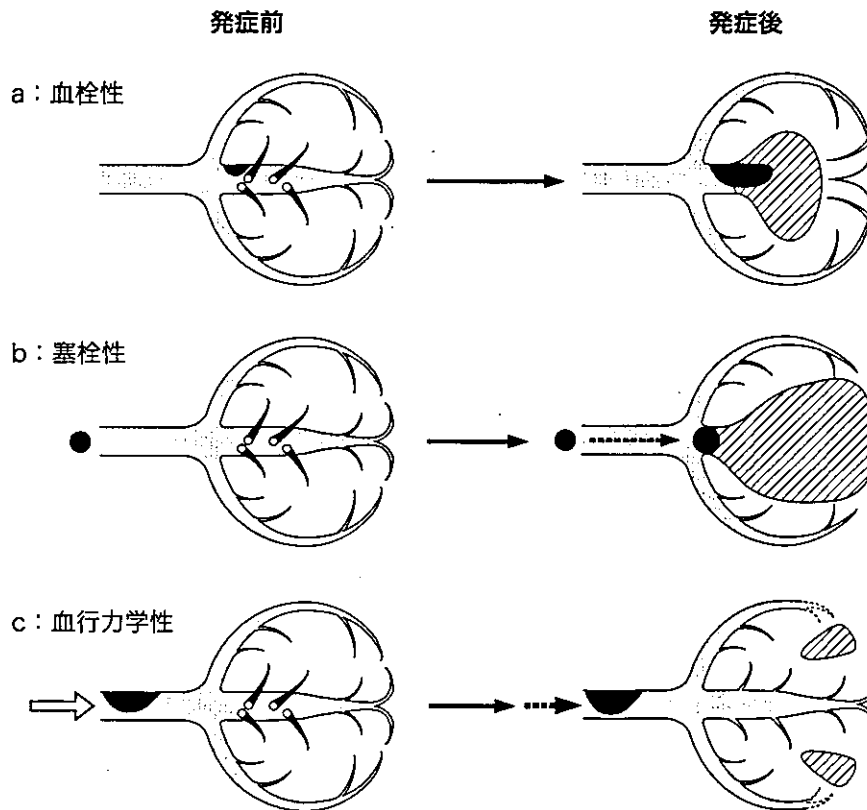


Fig. 1. 血栓性、塞栓性、血行力学性メカニズムのシェーマ

脳へ流入した太い動脈(例：内頸動脈)が3本の主幹動脈(例：中大脳動脈)に分岐し、穿通枝動脈を出したのち脳表面を灌流し脳軟膜動脈吻合を介して、他の主幹動脈(例：前大脳動脈)の灌流領域と交わっている様子を示す。

- a：血栓性メカニズム。主幹動脈に発症前から存在するアテローム硬化病変が粥腫破裂、粥腫内出血を契機として拡大進展し、狭窄、閉塞をきたす。穿通動脈起始部(○)の閉塞も伴うことが多く、その場合は同領域の梗塞(斜線部分)を伴う。しかし脳表面は、アテローム病変が発症前から存在し、その末梢部の灌流圧の低下の持続などにより脳軟膜動脈吻合を介した側副血行路が発達している場合が多く、主幹動脈起始部が閉塞しても、その灌流領域の大脳皮質は梗塞から免れることが多い。
- b：塞栓性メカニズム。主幹動脈より近位部(例：内頸動脈)に塞栓源(●)が存在し、それが剥がれて流れ、主幹動脈を栓塞する。血栓性とは異なり、脳組織は突然重度の虚血に曝されることとなり、早期の血流再開通がない限り、主幹動脈の支配領域全域に及ぶ広範な梗塞を呈することとなる。
- c：血行力学性メカニズム。発症前から脳へ灌流する太い動脈に狭窄性病変が存在し、普段は脳への高い灌流圧により脳血流は保たれているが、血圧低下、心拍出量低下などを契機として、脳灌流圧のもっとも低下する境界域に梗塞を発生する。

脈を閉塞しなくとも、穿通動脈開口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。

Fig. 2 に66歳男性でゴルフ終了後に左片麻痺

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

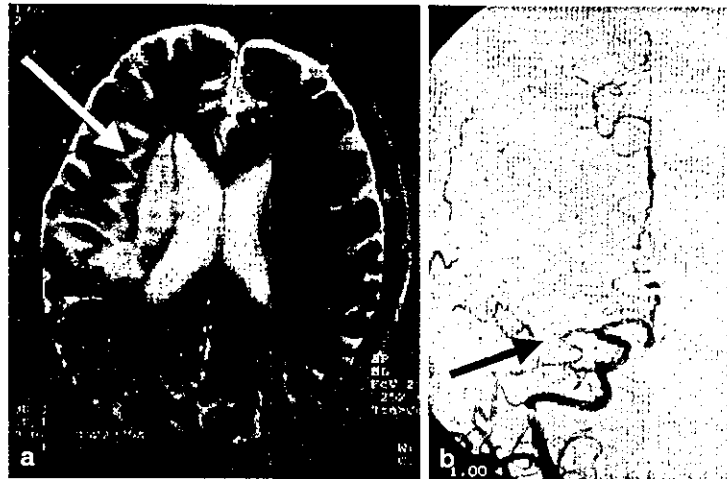


Fig. 2. 血栓性メカニズムで発症した症例(66歳, 男性)
a : MRI(T₂強調画像), b : 右頸動脈造影
ゴルフ終了後に左片麻痺で発症した。MRI(T₂強調画像；a)では右前頭葉, 頭頂葉白質, 放線冠に梗塞(白矢印)を認めるが, 大脳皮質の大部分の領域は梗塞を免れている。後日施行した右頸動脈造影(b)では右中大脳動脈の閉塞(矢印)が確認された。

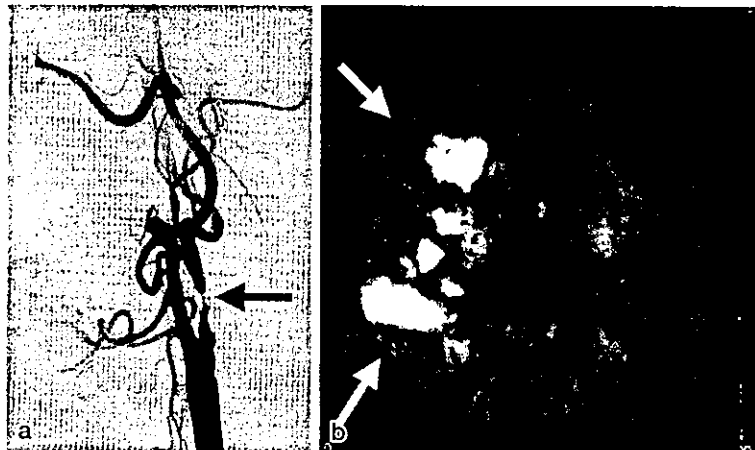


Fig. 3. 塞栓性メカニズムで発症した症例(62歳, 男性)
a : 右頸動脈造影, b : MRI 拡散強調画像
左片麻痺, 呂律困難を呈した症例である。右頸動脈造影(a)で頸動脈分岐部に高度狭窄病変(矢印)を認め, MRI 拡散強調画像(b)にて右大脳半球に多発性の大小さまざまな梗塞病変を認めた。

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, とく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。したがって虚血の重度が塞栓性に比べると軽度であり, 神経細胞障害の進行もゆっくり起こる場合が多いと考えられる。もう一つ留意すべき点は, 血栓その

ものが進展, 拡大して脳梗塞を増大する可能性があることである。

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じる。潰瘍形成したアテローム硬化病変や

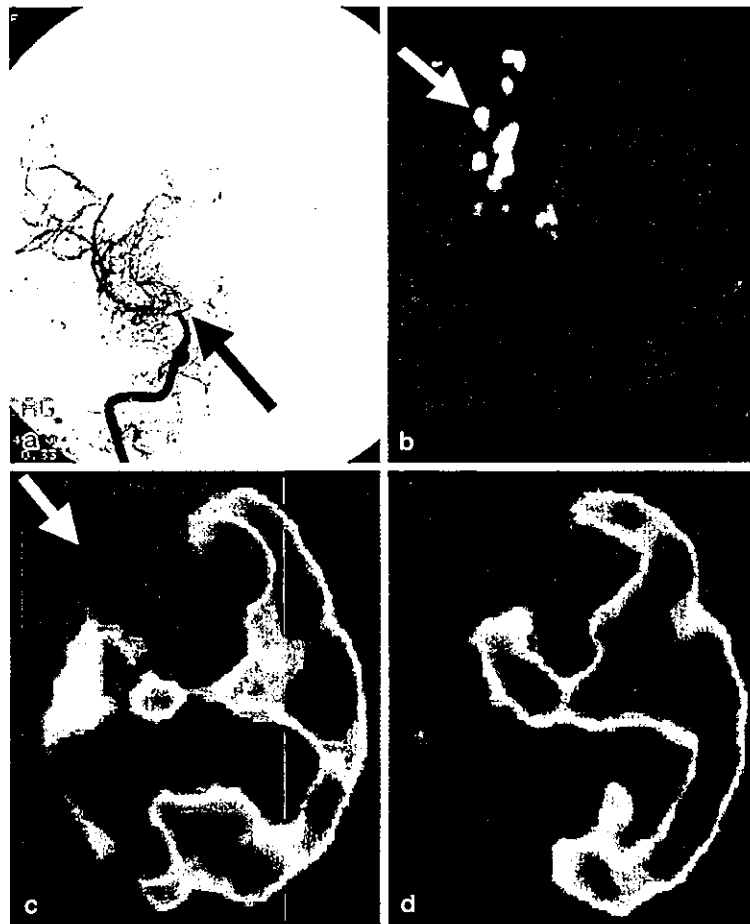


Fig. 4. 血行力学性メカニズムで発症した症例(66歳, 女性)
a : 右頸動脈造影, b : MRI 拡散強調画像, c : IMP-SPECT-Rest,
d : IMP-SPECT-ACZ

歩行時の左下肢脱力にて発症した。右頸動脈造影(a)で右中大脳動脈起始部に高度狭窄, 右前大脳動脈閉塞(矢印)を認めた。MRI 拡散強調画像(b)では右前頭葉に梗塞病変(矢印)を認めた。 ^{123}I -IMPを用いた脳血流 SPECT 検査(IMP-SPECT; c)では安静時に右前頭葉の血流低下, acetazolamide(ACZ)負荷(d)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。

粥腫内出血などで急性閉塞をきたした際に、とくに塞栓子が剝がれ遠位部に流されやすいと考えられている。動脈閉塞部位は塞栓子の大きさによりさまざまであり、ある程度の大きさ以上の栓子が脳動脈を閉塞した場合に脳梗塞を発症する。したがって発症形式としては、心原性脳塞栓症のように突発発症の形式をとる場合が多く、臨床症状だけでは後述の心原性脳塞栓症との鑑別がむずかしい場合もある。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る。心原性脳塞栓症では単一の比較的大きな梗塞の場合が多いが、本メカニズムでは散在性にさまざまなサイズの梗塞病変がみられることが多い。

Fig. 3 には、62歳男性で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症した症例を呈示した。大動脈の動脈硬化性粥腫からの塞栓子に起因する大動脈原性脳

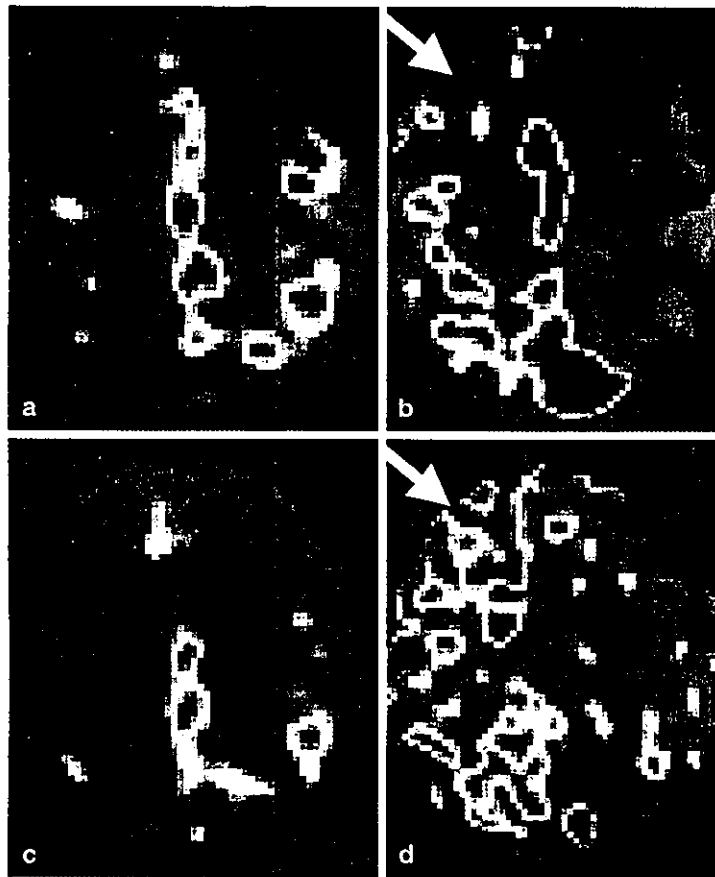


Fig. 5. 血行力学性メカニズムで発症した症例の脳循環代謝動態
a : 脳血流量(CBF), b : 脳血液容量(CBV), c : 脳酸素代謝率(CMRO₂), d : 脳酸素摂取率(OEF)

Fig. 4 と同一例。患側である右脳半球では CBF は低下, CBV は増加(矢印)しているが, CMRO₂ は保たれている。その結果, OEF が上昇(矢印)して貧困灌流症候群(misery perfusion)を呈している。

塞栓症も、広義には塞栓性カテゴリーに含まれる。メカニズムが塞栓性であるので自然再開通を起こし、出血性脳梗塞を呈することもある。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、ticlopidine や aspirin といった抗血小板薬が、急性期から再発予防を目的に使用されることが多い。

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が虚血に陥り発症する脳梗塞である。もっと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じる脳虚血は、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

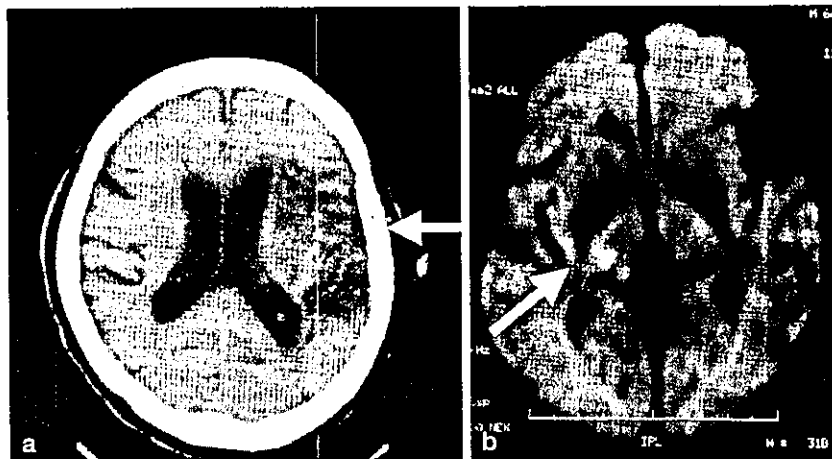


Fig. 6.

- a : 心房細動を基礎疾患として心原性脳塞栓症を発症した症例(74歳, 女性). 右片麻痺, 失語で発症した. 左前頭葉から側頭葉にかけて広範な低吸収域を認める.
- b : ラクナ梗塞症例(63歳, 男性). 左上下肢のしびれ, 不全麻痺にて発症し, MRI 拡散強調画像にて右視床に径7mm大のラクナ梗塞を認める.

能の喪失がみられる stage II に分類される⁷⁾. stage II は, PET では脳血流量が低下しているが脳酸素代謝率が保たれ, 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. 現在, わが国では血行力学的な脳梗塞予防を目的とした extracranial-intracranial (EC-IC) バイパス術の有効性を検討している JET (Japanese EC/IC bypass Trial) が進行中である.

Fig. 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, acetazolamide 負荷による脳循環予備能の低下を認めた. PET (Fig. 5) にても脳血流量の低下, 脳血液容量の増加がみられ, 脳酸素代謝は保たれ, 脳酸素抽出率が上昇し, 血行力学的に stage II と判断された症例である.

心原性脳塞栓症●

脳梗塞の病型の中では, もっとも重篤な状態を呈しうる疾患である. 発症メカニズムは病型名の

とおり塞栓性である. 心腔内に生じた血栓が剥がれ, 大動脈に流れ込み脳動脈を急激に塞栓するため, 血管支配領域の脳実質に重度の虚血を呈することが多い. 臨床的には突発する脳塞栓症では本病型を第一に考える必要があるが, 動脈硬化の進展した例ではアテローム血栓性脳梗塞の塞栓性メカニズムによる発症との鑑別が必要となる. 飛来する塞栓子の頻度は低く, TCD で HITS として捉えることは, アテローム血栓性脳梗塞の塞栓性メカニズムの場合と異なりまれである. しかし塞栓子の大きさは大きい場合が多く, 頭蓋内内頸動脈, 中大脳動脈起始部, 脳底動脈といった頭蓋内主幹動脈を急激に閉塞する機会が多い. また, 塞栓子が小さい場合でも皮質領域の脳梗塞を呈するのが典型的とされる. しかし塞栓子が穿通枝領域に流入して小梗塞を呈した場合は, ラクナ梗塞との鑑別が必要となる.

Fig. 6 a には, 心房細動を有する 74歳女性で, 突然, 右片麻痺, 失語を発症した症例の脳 CT 像を示す. 左前頭葉から側頭葉の中大脳動脈領域に広範な低吸収域を認める. 心疾患を基礎疾患 (Table 2) として有する場合が大部分であり, 中で

Table 2. 心原性脳塞栓症の基礎心疾患

1. 心房細動
2. 洞不全症候群
3. リウマチ性弁膜症
4. 心筋梗塞
5. 人工弁(とくに機械弁)
6. 心筋症
7. 心内膜炎(感染性, 非細菌性血栓性)
8. 心房粘液腫
9. 卵円孔開存
10. 先天性心疾患(右左シャントを有する場合)
11. 僧帽弁逸脱症
12. 心房中隔瘤
13. 心臓ペースメーカー

も半数近くを非弁膜症性心房細動が占めている。心房細動には持続性と発作性があるが、両者とも脳塞栓症の危険因子であり、60歳以上の高齢者、高血圧・糖尿病の既往、冠動脈疾患、うっ血性心不全を認める例ではとくに血栓が生じやすく、積極的な抗凝固療法または抗血小板療法が一次予防に用いられる⁸⁾。わが国での aspirin の非弁膜症性心房細動症例での脳梗塞一次予防の有効性を検討した JAST (Japanese Atrial Fibrillation and Stroke Trial) が現在進行中である。また、下肢静脈血栓症などにより発生した血栓が、心臓内の右左シャント(卵円孔開存など)を有する症例において、肺循環を介さず大動脈に流入して脳動脈を栓塞する場合を奇異性脳塞栓症と呼んでいる。心臓内の血栓の検索、心臓内シャントの有無の検索には、通常の経胸壁心エコーでは不十分であり、経食道心エコー検査が必要となる。

ラクナ梗塞●

脳内穿通枝動脈の動脈硬化により血管が閉塞し、その灌流領域に生じる小梗塞である。発症メカニズムは血栓性である。脳表面を灌流する皮質枝動脈間には、脳軟膜動脈吻合が豊富なため、1つの小血管が徐々に閉塞しても側副血行路のため梗塞を生じることはまずないが、脳内穿通枝動脈は側副血行を有さない終末枝動脈であるため、その

閉塞により梗塞をきたすこととなる。大きさは1.5 cm 以下であり、脳梗塞の3病型の中では、もっとも軽症であり予後がよく、意識障害を呈することはなく、失語、失認といった大脳皮質症状を呈することもまずない。

穿通枝動脈の動脈硬化には、加齢、高血圧を基盤として直径200 μm 以下の穿通枝末梢部に lipohyalinosis (細動脈硬化) をきたす場合と、穿通枝が主幹動脈から分岐した直後から比較的近位部にかけての直径400~900 μm の太い穿通枝に microatheroma と呼ばれるアテローム硬化性変化をきたす場合が存在する。前者は梗塞サイズが通常5 mm 以下であり、無症候性脳梗塞は大部分が細動脈硬化に起因する。後者は梗塞サイズが5~15 mm であり、臨床的に神経症候を呈し、ラクナ梗塞と診断されるものは大部分が後者である。

Fig. 6 b には、左上下肢のしびれ、左不全麻痺で発症し右視床にラクナ梗塞を認めた症例を示す。microatheroma の発生には、加齢、高血圧に加えてアテローム硬化の危険因子である高脂血症、糖尿病、喫煙などの関与が考えられている。また、穿通枝の入口部が主幹動脈のアテローム硬化により閉塞する場合は、アテローム血栓性脳梗塞と診断すべきであり、また、心臓または頸動脈病変由来の微小塞栓子が穿通枝に流れ込み閉塞した場合も、脳梗塞サイズは小さくとも心原性脳塞栓症またはアテローム血栓性脳梗塞と診断すべきと考えられる。ラクナ梗塞の急性期ではアテローム血栓性脳梗塞、とくにその血栓性メカニズムによる発症との鑑別がむずかしい場合もあり、発症当初、臨床症状からラクナ梗塞と考えられても、1~2日かけて神経症状が重篤化し、頭蓋内主幹動脈に動脈硬化性病変を有するアテローム血栓性脳梗塞である場合がある。

そ の 他●

脳梗塞は高齢者に多く発生する疾患であり、その大部分は、アテローム血栓性脳梗塞、心原性脳塞栓症、ラクナ梗塞に分類されるが、とくに若年

者に脳梗塞が発生した場合、アテローム血栓性脳梗塞、ラクナ梗塞は考えにくく、心原性脳塞栓症またはその他の疾患を考慮する必要がある。

まず高安動脈炎、側頭動脈炎などの血管炎、頸部内頸動脈、椎骨動脈、頭蓋内主幹動脈に多発性狭窄と、隣接部の拡張により数珠状(string of beads)の血管病変を呈する線維筋性異形成(fibro-muscular dysplasia)、内頸動脈終末部を含むウィリス動脈輪の閉塞(もやもや病)、頸部内頸動脈、椎骨動脈での特発性解離病変などは、若年者での脳梗塞の原因として念頭に置く必要がある。血液凝固障害による血栓症では、深部静脈血栓症がもっとも多いが、脳梗塞も発症しうる。プロテインC, S, AT IIIの遺伝的な機能低下、欠損症以外に、抗リン脂質抗体症候群も脳梗塞の原因疾患として重要である。

おわりに●

脳梗塞の病型とその発症機序について把握することは、一次予防、急性期治療手段の選択や内科的管理、慢性期の再発予防を考えるうえで、必須事項である。

文 献●

- 1) National Institute of Neurological Disorders and Stroke Ad Hoc Committee : Classification of cerebrovascular disease III. *Stroke* **21** : 637, 1990
- 2) Caplan LR : Intracranial branch atheromatous disease : a neglected, understudied, and underused concept. *Neurology* **39** : 1246, 1989
- 3) Amarenco P et al : The prevalence of ulcerated plaques in the aortic arch in patients with stroke. *N Engl J Med* **326** : 221, 1992
- 4) 桑原敬介ほか : 脳血管の動脈硬化(血管壁の石灰化). 最新・分子動脈硬化学, 森崎信尋ほか(編), メディカルレビュー社, 東京, p115-126, 2000
- 5) Ridker PM et al : C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* **342** : 836, 2000
- 6) Hashimoto H et al : C-reactive protein is an independent predictor of the rate of increase in early carotid atherosclerosis. *Circulation* **104** : 63, 2001
- 7) Powers WJ et al : Physiological responses to focal cerebral ischemia in humans. *Ann Neurol* **15** : 546, 1984
- 8) 日本循環器病学会学術委員会合同研究班 : 心房細動治療(薬物)ガイドライン. *Jpn Circ J* **65** [Suppl V] : 931, 2001

再生医療・細胞移植

北川一夫*, 堀 正二*

KITAGAWA Kazuo, HORI Masatsugu

* 大阪大学大学院医学系研究科病態情報内科学

SUMMARY

神経幹細胞の研究の進歩に伴い、各種神経病態下において再生医療の応用が注目されている。脳卒中は、ヒト脳が最も遭遇する頻度の高い疾患であり、いったん発症してしまうと重篤な神経後遺症を残す場合も少なくない。脳卒中において将来的に臨床への還元が期待できる手段として、内因性の神経細胞新生を促進する手段と、神経幹細胞などを用いた細胞移植手段の2つが考案されている。われわれの研究を含め、今日までに脳虚血侵襲に際して海馬や側脳室下帯に存在する神経幹細胞または神経前駆細胞の分裂・増殖が促進され、とくに海馬では増殖細胞は成熟神経細胞に分化することが明らかになってきている。そして、このような内因性の神経細胞新生を最大限活用する手段の開発が期待されている。また細胞移植による治療も、神経幹細胞、ES細胞よりは倫理的な問題の少ない骨髄細胞を用いる実験的な研究成果もあがりつつある。しかし臨床現場で、後遺症に苦しむ多くの脳卒中患者に、神経幹細胞の増殖、神経細胞新生の促進、細胞移植による神経細胞再生という夢を実現するには、克服されるべき多くの基礎的検討課題が残されている。

POINTS

- 成熟動物脳（ヒトを含む）にも神経幹細胞が存在し、神経細胞新生が持続している
- 脳虚血侵襲により、側脳室周囲、海馬での神経幹細胞（または前駆細胞）の分裂・増殖が促進され、神経細胞新生が亢進する。
- 脳梗塞に際して、外因性に投与された神経幹細胞、骨髄細胞の一部は生存し、神経細胞に分化する。

KEY WORDS

神経幹細胞, Neurogenesis, Musashi 1, 脳虚血, 細胞移植, 骨髄細胞

はじめに

脳血管障害に対する最も有効な防御手段は、その予防であり、またいったん発症した場合には適切な急性期治療の有無が患者の予後を大きく左右する。しかし、いったん完成した脳卒中患者では機能予後改善を目指してリ

ハビリテーションが施行されるが、重篤な神経後遺症を残す場合も少なくない。脳血管障害において神経後遺症を呈するのは、特定の機能をになっていた神経細胞の死滅、脱落および神経回路網の破壊が原因であり、これらが再生あるいは再構築されないのが原因と考えられる。成人ヒト脳では、神経細胞は高度に分化した細胞であり

■成熟動物（ヒトを含む）脳では、側脳室周囲、海馬に神経幹細胞が存在し、神経細胞新生が持続している。

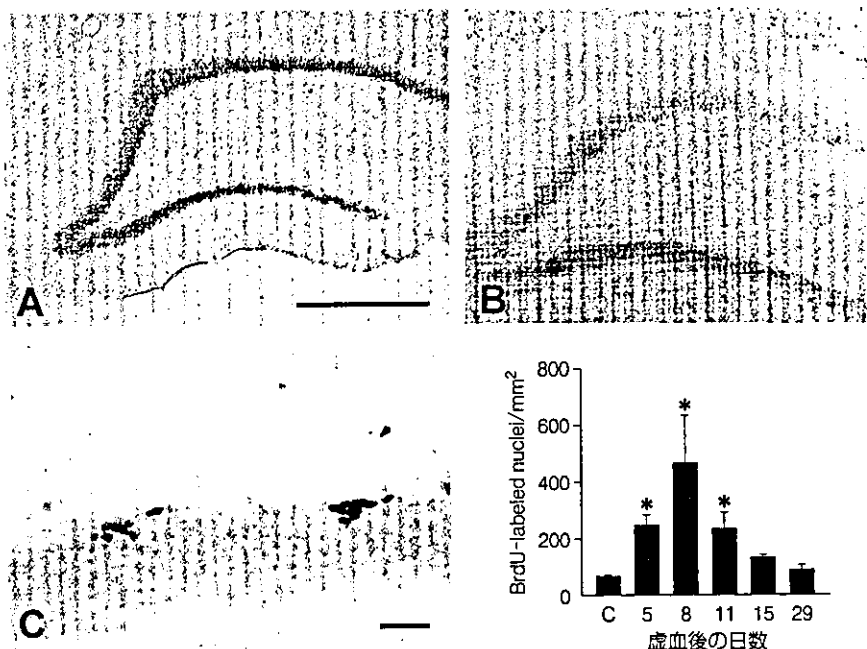


図1 虚血海馬における神経幹細胞または神経前駆細胞の分裂・増殖の亢進
非虚血動物 (A) に比べ、虚血7日後の動物 (B) (C) では、海馬歯状回顆粒下層 (C) での BrdU 陽性細胞の顕著な増加を認める。虚血8日後をピークとした一過性の神経幹 (前駆) 細胞の分裂、増殖の亢進を認める。

分裂・増殖しないとされてきた。しかし近年ヒト脳でも神経幹細胞が存在することが明らかになり、内因性に存在する神経幹細胞 (または神経前駆細胞) の脳梗塞モデルでの動態やその規定因子についてもかなり明らかになってきた。また、脱落した神経細胞を補填するのに内在性の神経幹細胞の活性化だけでは量的に不十分な可能性が大きく、細胞移植による神経細胞の補填が実験的には試みられているため、その現況についても述べる。

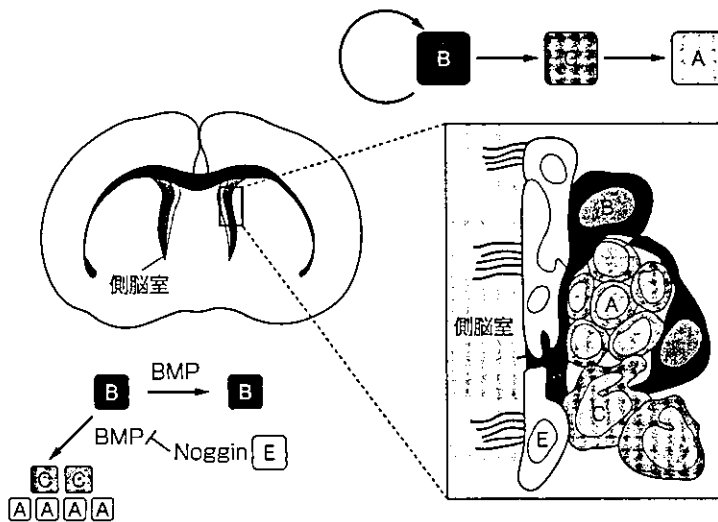
虚血脳での内因性神経細胞新生

1) 脳虚血モデルでの海馬歯状回での神経細胞新生

脳虚血モデルで最初に神経細胞新生の亢進について報告したのは、Sharp らのグループである¹⁾。砂ネズミの両

側総頸動脈5分間閉塞再灌流モデルでは、海馬CA1, CA4に選択的神経細胞死を生ずる。しかし同モデルでは虚血10日後をピークとして海馬歯状回顆粒下層 (subgranular zone: SGZ) 領域で、Bromodeoxyuridine (BrdU) を取り込んだ増殖細胞数の増加とその後の神経細胞への分化が示された。その後同様な一過性前脳虚血モデルを用いて、ラット²⁾、マウス³⁾海馬SGZでもBrdU陽性の増殖細胞数の増加が報告された。一方、ヒトの脳梗塞に近いモデルとしてはラットやマウスの中大脳動脈閉塞モデルが存在するが、同モデルでは本来後大脳動脈の灌流領域である海馬は虚血にさらされず、虚血遠隔領域と考えられる。しかしわれわれの報告も含め、ラット⁴⁻⁶⁾、マウス⁷⁾ともに中大脳動脈閉塞7日後をピークと

■脳虚血侵襲後1週間頃をピークとして神経幹細胞または神経前駆細胞の分裂・増殖が促進され、神経細胞新生が亢進する。



図② 神経幹細胞，神経前駆細胞の動態

(Alvarez-Buylla A *et al*, 2002¹¹⁾より引用)
Alvarez-Buylla らの提唱する側脳室周囲での神経幹細胞の動態。側脳室に上衣細胞 (Ependymal Cell : E) が面しており、その下層にアストロサイトの特徴を有する神経幹細胞 (B)、神経前駆細胞 (C)、幼若神経細胞 (A) が存在する。Bone morphogenetic protein (BMP) は、神経幹細胞からの神経細胞への分化を抑制しているが、脳室上衣細胞から分泌される Noggin は BMP に結合し、その抑制効果を消失させる。

して同側のみならず反対側海馬での BrdU 陽性の増殖細胞数の増加を認めている。

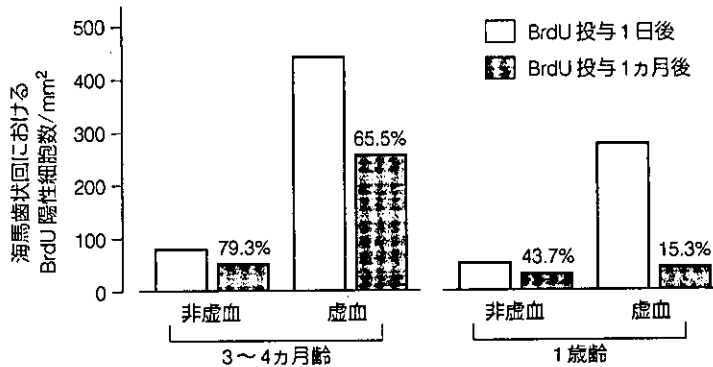
2) 虚血海馬での神経前駆細胞動態

海馬 SGZ に存在する神経幹細胞または神経前駆細胞の性状については十分に解明されていないが、最近 Alvarez-Buylla らのグループが同領域のアストロサイト (星状グリア細胞) が神経前駆細胞であるとの報告をおこなっている⁹⁾。BrdU は神経幹細胞のみならず、脳内に存在する増殖能をもった細胞、グリア細胞、ミクログリア、血管内皮細胞にも取り込まれうることを念頭においておく必要がある。とくに虚血侵襲を受けた後では、脳内で活性化されたミクログリア、マクロファージは活発な増殖能を示し、BrdU でラベルされる細胞の大部分はミクログリア、マクロファージである可能性がある。このような点を考慮して、われわれは神経幹細胞の選択的マーカーである Musashi 1 (Msi-1) に対する抗体を用いて、虚血脳海馬での神経幹細胞の動態について検討し

てきた⁶⁾⁹⁾¹⁰⁾。神経幹細胞の選択的マーカーである Msi-1 やネスチンはアストロサイトにも存在するため、われわれは神経幹細胞マーカーが陽性で、アストロサイトのマーカーであるグリア繊維性酸性蛋白 (GFAP) が陰性である細胞を神経前駆細胞とした¹⁰⁾。ラットの4血管閉塞再灌流モデルでは、虚血7日後をピークとした海馬 SGZ での BrdU 陽性細胞数の増加が観察されたが (図①)⁹⁾、虚血海馬での分子マーカーを用いた検討でも正常脳と同様に SGZ での BrdU 陽性の増殖細胞の大部分は Msi-1 陽性、GFAP 陰性であった。Alvarez-Buylla らが提唱¹¹⁾ (図②) するように、虚血侵襲後に分裂・増殖が促進される神経前駆細胞がアストロサイトに由来するものかどうかは今後の検討が必要である。

つぎに、海馬 SGZ で分裂増殖した神経前駆細胞は、幼若で未分化な神経細胞を経て成熟神経細胞に分化すると考えられる。海馬 SGZ で BrdU でラベルされた細胞は幼若神経細胞のマーカーである Polysialylated neural cell adhesion molecule (PSA-NCAM) を発現したのち、

■脳虚血による内因性の神経細胞新生亢進のメカニズムは、分泌される神経系成長因子の関与が想定されているが、その詳細は不明である。



図④ 虚血海馬における神経細胞新生に対する加齢の影響
若年期(3~4ヵ月齢)と壮年期(1歳齢)ラット海馬でのBrdUでラベルされる増殖細胞数(BrdU投与1日後および28日後)に対する虚血の影響を示す。%はBrdU投与1日後にくらべ28日後に生存した細胞の割合を示す。壮年期ラットでは、若年齢ラットと同様に、虚血侵襲によりBrdU投与1日後にラベルされる増殖細胞数の顕著な増加を認めるが、いったん新生された細胞の1ヵ月後の生存率は若年齢(65.5%)であるのにくらべ、壮年期ラット(15.3%)では顕著に低下している。

神経細胞に分化することが砂ネズミ脳虚血モデルで報告されている¹²⁾。われわれは幼若神経細胞のマーカであるDoublecortinが虚血侵襲後の海馬SGZでBrdUラベル1日後にすでに発現していることを認めている⁶⁾。BrdUでラベルされた後2週間以上を経て、成熟神経細胞のマーカであるNeuNあるいは微小管結合蛋白2(MAP2)を発現するようになり、神経前駆細胞由来の増殖細胞が神経細胞に分化する。

3) 虚血海馬での神経幹細胞分裂・増殖を規定する因子

これまでの報告で共通しているのが、海馬SGZでの増殖・分裂細胞数の増加は虚血後1週間以上経てからピークに達するという点である。すなわち、虚血侵襲そのものが誘因というよりは、虚血によって引き起こされる二次的な因子がSGZでの神経前駆細胞の分裂促進を規定していると考えられる。虚血海馬での規定要因とし

て最も有力視されているのが、虚血侵襲により二次的に分泌される神経栄養因子の関与である。塩基性線維芽細胞増殖因子(basic fibroblast growth factor: bFGF)を欠損させた動物では、中大脳動脈閉塞後の海馬SGZでのBrdU陽性細胞数の増加が抑制されることが報告され、神経栄養因子の関与を示唆している⁷⁾。また、グルタミン酸受容体拮抗薬¹³⁾¹⁴⁾やアセチルサリチル酸¹⁵⁾の投与によって虚血侵襲後の神経前駆細胞の分裂・増殖が抑制されることも報告されているが、その解釈は十分にされていない。さらに虚血損傷によって神経回路網の破壊、再構築などもダイナミックに起こっており、それらが神経前駆細胞の分裂・増殖に及ぼす影響も想定される。

4) 虚血海馬での新生神経細胞生存維持に関与する因子

神経細胞新生を促進させるうえで、神経前駆細胞由来の分裂・増殖を促進させるとともに新生細胞の生存維持、

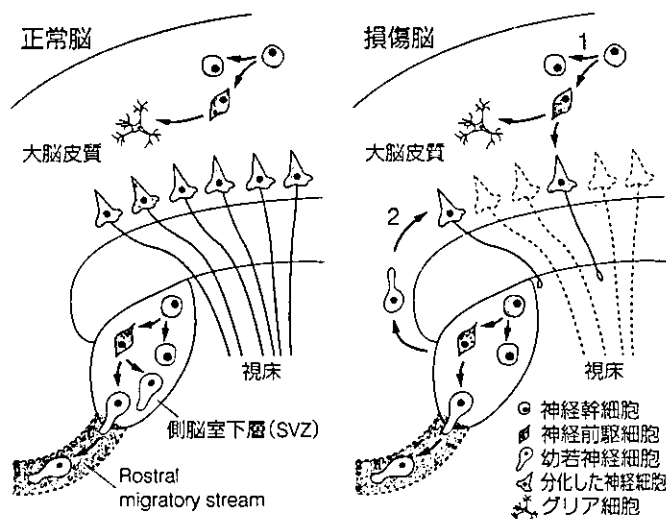
■ヒト脳梗塞に近い中大脳動脈閉塞モデルでも、梗塞周辺領域で神経細胞新生が観察される。

神経細胞への分化促進することが重要である。生理的には豊かな環境、刺激の多い環境で飼育された動物は、神経前駆細胞の分裂程度には差がないものの、いったん分裂した細胞の生存維持が向上し、神経細胞新生に結びついている¹⁶⁾。脳虚血モデルでの新生細胞生存維持に関しては、われわれがラット一過性前脳虚血モデルで検討したのが最初である⁹⁾。3~4ヵ月齢の若年成熟ラットでは、正常海馬と虚血侵襲後海馬いずれにおいても、BrdU投与翌日にラベルされた増殖細胞の約7~8割は1ヵ月後にも生存し神経細胞に分化しているのが観察された。しかし1歳齢の壮年期ラットでは、虚血侵襲によりBrdU陽性の神経前駆細胞の分裂・増殖は同程度に生ずるが、1ヵ月後の生存が2割以下と低下し、結果的にはわずかな神経細胞新生にとどまることが明らかになった(図③)⁹⁾。またラット中大脳動脈閉塞モデルでは3~4ヵ月齢の若年ラットであるにもかかわらず反対側海馬で神経前駆細胞から分裂・増殖した細胞の生存率は1ヵ月後には2割以下と顕著に低下しており、同モデルでの反対側海馬

での神経細胞新生もわずかであることが明らかとなった⁹⁾。加齢ラット、虚血反対側での新生細胞の生存維持を低下させている要因は不明だが、脳梗塞が壮年期から老年期に多い疾患であることを考えると、神経細胞新生促進を臨床的な治療手段とする場合、この点は克服される必要がある。

5) 側脳室下層での神経幹細胞動態、大脳皮質での神経細胞新生

成熟動物脳での神経幹細胞自身の性状に関する研究は、海馬SGZより側脳室下層(subventricular zone: SVZ)でのほうがよく調べられている。生理的狀態では、SVZでの神経幹細胞が分裂・増殖してrostral migratory stream (RMS) を経由して嗅球に移動し神経細胞に分化する。また大脳皮質細胞を選択的に脱落させたマウス脳ではSVZまたは皮質に内在する神経前駆細胞由来の神経細胞新生が起こることが示されている(図④)¹⁷⁾¹⁸⁾。中大脳動脈閉塞モデルでは、SVZの近傍の大脳



図④ 損傷脳における神経細胞新生のシエマ (Magavi SS *et al.*, 2002¹⁷⁾, Bjorklund A *et al.*, 2002¹⁸⁾より引用)

正常脳では、側脳室下層(SVZ)に存在する神経幹細胞は分裂後rostral migratory streamに沿って移動し、嗅球の神経細胞に分化する。大脳皮質ではグリア細胞だけが新生される。一方損傷脳では、SVZの神経幹細胞もしくは大脳皮質に内在する神経幹細胞が、分裂・増殖し損傷部位で神経細胞に分化する。



■ 虚血脳組織へ移植された神経幹細胞，骨髄細胞のごく一部は生存し，神経細胞へ分化する。

皮質や線条体が梗塞に陥るが，同側 SVZ での BrdU 陽性の増殖細胞数は海馬同様虚血 7~14 日後をピークとして増加している^{4)~7)}。しかし反対側 SVZ での BrdU 陽性細胞数に関しては，虚血再灌流モデル⁴⁾では同側と同様に BrdU 陽性細胞数が増加するが，永久閉塞モデル⁵⁾⁶⁾ではわれわれの検討も含めて虚血後とくに大きな変動がなさそうである。しかし，虚血モデルでの SVZ での増殖細胞の性状に関する検討はされておらず，BrdU 陽性細胞のどの程度が神経幹または神経前駆細胞であるかは定かでない。また，虚血後に SVZ でみられる増殖細胞は近接した大脳皮質，線条体に移動して神経細胞に分化するかどうか明らかでない。しかし，同領域の神経幹細胞は脳室内に投与された神経栄養因子によく反応して増殖することから，脳梗塞周辺領域の神経細胞新生に寄与する可能性は高いと考えられる。

一方，脳梗塞モデルを用いての梗塞領域での神経細胞新生に関する研究も散見される¹⁹⁾²⁰⁾。しかし，脳梗塞およびその周辺領域において BrdU でラベルされる大部分の増殖細胞はミクログリア，マクロファージ，アストロサイトであり，神経細胞新生はないとする報告がある。他方で Wester らのグループは，BrdU 陽性細胞のうち 3% に神経細胞のマーカである MAP2 の発現がみられたと報告している。しかし，増殖した細胞が MAP2 を発現するのは，数日間という非常に短い期間であることや，損傷細胞への BrdU の取り込みの可能性もあることから，その結果の解釈には注意を要する。脳梗塞モデルで梗塞周辺部で神経細胞新生が生じるのか，また生ずるとすればどの箇所の神経幹または神経前駆細胞に由来しているのかなど，明らかにされるべき点は多く残されている。

細胞移植

これまでは内因性の神経細胞新生について触れてきたが，幹細胞医学の進歩はめざましく，すでにパーキンソン病では神経細胞移植の臨床成績が報告されている²¹⁾。神経幹細胞も成人ヒト脳からの分離に成功されており，倫理的問題はあるものの将来の脳梗塞の治療に用いられる可能性がある。2000 年には Pittsburg 大学の脳神経外科のグループが，脳梗塞患者にヒト奇形腫由来の神経細胞を脳内に細胞移植し，運動機能の改善がみられたと報告した²²⁾。後者には倫理的問題や未解決な多くの問題が残されており，ただちに臨床に広く応用されるとは考えにくい。一方で骨髄細胞は，血管，神経細胞，筋肉細胞など他種類の細胞へ分化しうることが明らかになってきている。Chopp らのグループは，ラット中大脳動脈閉塞モデルで骨髄細胞を脳実質への投与²³⁾，頸動脈からの投与²⁴⁾，経静脈的な投与²⁵⁾により，いずれも脳梗塞組織で割合は少ないながらも神経細胞に分化することを報告している。またヒト臍帯血を脳梗塞を作成したラットに投与すると，外因性に投与したヒト臍帯血細胞が神経細胞やグリア細胞に分化し，神経機能予後を改善することを報告している²⁶⁾。Zhao らは，純化した骨髄幹細胞をラット脳梗塞モデルの虚血周辺部に注入し，アストロサイト，オリゴデンドロサイト，神経細胞に分化することを報告している²⁷⁾。神経幹細胞に関しては Toda らが，海馬由来の神経幹細胞をラットの虚血性神経細胞死を呈した海馬 CA1 領域に注入すると移植細胞数の 1~3% が生存し，そのうち 3~9% が神経細胞に分化し，100 個以上の移植細胞由来の神経細胞が存在するときに神経機能が改善する，との興味深い報告をおこなっている²⁸⁾。また，羊膜上皮細胞を砂ネズミ虚血脳海馬に移植する実験もおこなわれている²⁹⁾。近年，皮膚からも神経細胞に分化しう

る幹細胞の分離が成功³⁰⁾されており、倫理面での問題の少ない移植細胞の候補として期待される。

おわりに

脳卒中による神経細胞脱落または神経回路破壊にもとづく神経後遺症を軽減するための再生医療として、最も注目されている内因性神経細胞新生亢進と細胞移植治療について、現時点での脳虚血モデル動物での知見を中心に述べた。本稿で述べた点以外にも、脳梗塞後の血管新生に関する問題、損傷された軸索進展に関する問題、神経回路網の可塑性の応用など、脳卒中後遺症軽減のための有望な未来の治療手段の多くは未開発のままであると思われる。脳卒中の1次、2次予防、Brain attackとしての急性期治療法の確立と並んで、機能予後改善を目的とした再生医療の応用が今世紀の脳卒中診療の柱になることが期待される。



文 献

- 1) Liu *et al* : Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils. *J Neurosci* 18 : 7768-7778, 1998
- 2) Kee NJ *et al* : Enhanced neurogenesis after transient global ischemia in the dentate gyrus of the rat. *Exp Brain Res* 136 : 313-320, 2001
- 3) Takagi Y *et al* : Proliferation of neuronal precursor cells in the dentate gyrus is accelerated after transient forebrain ischemia in mice. *Brain Res* 831 : 283-287, 1999
- 4) Jin K *et al* : Neurogenesis in dentate subgranular zone and rostral subventricular zone after focal cerebral ischemia in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 4710-4715, 2001
- 5) Zhang RL *et al* : Proliferation and differentiation of progenitor cells in the cortex and the subventricular zone in the adult rat after focal cerebral ischemia. *Neuroscience* 105 : 33-41, 2001.
- 6) Takasawa K *et al* : Increased proliferation of neural progenitor cells but reduced survival of newborn cells in the contralateral hippocampus after focal cerebral ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 22 : 299-307, 2002
- 7) Yoshimura S *et al* : FGF-2 regulation of neurogenesis in adult hippocampus after brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 5874-5879, 2001
- 8) Seri B *et al* : Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian hippocampus. *J Neurosci* 21 : 7153-7160, 2001
- 9) Yagita Y *et al* : Neurogenesis by progenitor cells in the ischemic adult rat hippocampus. *Stroke* 32 : 1890-1896, 2001
- 10) Yagita Y *et al* : Differential expression of Musashi1 and nestin in the adult rat hippocampus after ischemia. *J Neurosci Res* : (in press), 2002
- 11) Alvarez-Buylla A *et al* : Neurogenesis in adult subventricular zone. *J Neurosci* 22 : 629-634, 2002
- 12) Iwai M *et al* : Three steps of neural stem cells development in gerbil dentate gyrus after transient ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 22 : 411-419, 2002
- 13) Bernabeu R *et al* : NMDA and AMPA/kainite glutamate receptor modulate dentate neurogenesis and CA3 synapsin1 in normal and ischemic hippocampus. *J Cereb Blood Flow Metab* 20 : 1669-1680, 2000
- 14) Arvidsson A *et al* : N-methyl-D-aspartate receptor-mediated increase of neurogenesis in adult rat dentate gyrus following stroke. *Eur J Neurosci* 14 : 10-18, 2001
- 15) Kumihashi K *et al* : Acetylsalicylic acid reduces ischemia-induced proliferation of dentate cells in gerbils. *Neuroreport* 12 : 915-917, 2001
- 16) Kempermann G *et al* : More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386 : 493-495, 1997
- 17) Magavi SS *et al* : Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice. *Nature* 405 : 951-955, 2002
- 18) Bjorklund A *et al* : Self-repair in the brain. *Nature* 405 : 892-895, 2002
- 19) Gu W *et al* : Cortical neurogenesis in adult rats after reversible photothrombotic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 20 : 1166-1173, 2000
- 20) Jiang W *et al* : Cortical neurogenesis in adult rats after transient middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 32 : 1201-1207, 2001
- 21) Freed CR *et al* : Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 344 : 710-719, 2001
- 22) Kondziolka D *et al* : Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* 55 : 565-569, 2000
- 23) Chen J *et al* : Therapeutic benefit of intracerebral trans-

- plantation of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *J Neurol Sci* 189 : 49-57, 2001
- 24) Li Y *et al* : Treatment of stroke in rat with intracarotid administration of marrow stromal cells. *Neurology* 56 : 1666-1672, 2001
- 25) Chen J *et al* : Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke* 32 : 1005-1011, 2001
- 26) Chen J *et al* : Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke* 32 : 2682-2688, 2001
- 27) Zhao LR *et al* : Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. *Exp. Neurol* 174 : 11-20, 2002
- 28) Toda H *et al* : Grafting neural stem cells improved the impaired spatial recognition in ischemic rats. *Neurosci Lett* 316 : 9-12, 2001
- 29) Okawa H *et al* : Amniotic epithelial cells transform into neuron-like cells in the ischemic brain. *Neuroreport* 12 : 4003-4007, 2001
- 30) Toma JG *et al* : Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nature Cell Biol* 3 : 778-784, 2001

KITAGAWA Kazuo

T-786C Polymorphism in Endothelial NO Synthase Gene Affects Cerebral Circulation in Smokers

Possible Gene-Environmental Interaction

Shampa Nasreen, Toru Nabika, Hiroshi Shibata, Hidehiko Moriyama, Kazuya Yamashita, Junichi Masuda, Shotai Kobayashi

Abstract—Effects of smoking on white matter lesions, such as lacunar infarction and leukoaraiosis, are still controversial. We hypothesized that the endothelial NO synthase (eNOS) genotype was a modulating factor for the effect of smoking on cerebral circulation. We took a cross-sectional population from the participants of a health examination to study the effects of smoking and a single-nucleotide polymorphism in the eNOS gene, T-786C. Smokers and nonsmokers were defined as having a smoking index (cigarettes per day times years) of ≥ 200 and 0, respectively. One hundred sixty-six male nonsmokers and 344 male smokers were recruited. Cerebral blood flow was measured by the ^{133}Xe inhalation method. Genotyping of T-786C was performed by using a newly developed allele-specific polymerase chain reaction. Smokers were exposed to greater oxidative stress, as estimated by urinary F_2 -isoprostane excretion. In smokers, CC homozygotes of T-786C showed a significant decrease of cerebral blood flow (56.6 ± 13.3 , 57.6 ± 11.5 , and 44.0 ± 7.2 mL/min per 100 g tissue for TT, TC, and CC, respectively; $P=0.03$ by ANOVA) and a significant increase of cerebrovascular resistance, whereas the eNOS genotype did not affect these parameters in nonsmokers. This result indicated that the eNOS genotype could modify cerebrovascular circulation in a general population by potentiating the adverse effect of smoking. (*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:605-610.)

Key Words: nitric oxide synthase ■ polymorphism ■ cross-sectional studies ■ cerebral circulation

Smoking is an established risk factor for cardiovascular diseases. However, the adverse effect of smoking is controversial in some areas of cerebrovascular disease, such as lacunar infarction and white matter changes.¹⁻⁷ Such inconsistency may imply the importance of other environmental or genetic factors in modifying the effects of smoking. Because lacunar infarction and white matter changes are based on occlusive changes in small arteries perforating into the white matter and are characterized by decreased cerebral blood flow (CBF) and increased cerebrovascular resistance (CVR), the endothelial NO synthase (eNOS) gene is a good candidate for such a factor; eNOS constitutively produces NO, a potent vasodilator as well as an antitrophic factor for the arterial wall.⁸⁻¹¹ Several reports have indicated that eNOS plays an essential role in the regulation of basal CBF in humans and in mice.^{9,10} Furthermore, because smoking antagonizes the action of NO through the induction of oxidative stress,¹² it is logical to hypothesize that genetic alteration of eNOS activity may be a modifier of the effect of smoking on the cerebral circulation.

Recently, the eNOS gene was studied extensively for genetic polymorphisms to elucidate its genetic role in cardio-

vascular diseases. As a result, a single-nucleotide polymorphism (SNP) in the promoter region, T-786C, was found to modify the promoter activity in vitro.¹³ In addition, this SNP and a 27-bp repeat polymorphism in intron 4, called ecNOS4 a/b, were reported to influence eNOS mRNA and protein levels in vivo.¹⁴ Furthermore, because these 2 polymorphisms were in strong linkage disequilibrium in whites,¹⁵ the effects of ecNOS4 a/b seemed to be attributed at least partly to T-786C through the alteration of eNOS expression.

These observations prompted us to study whether T-786C in the eNOS gene influenced the effect of smoking on the cerebral circulation. Results of the present study indicate that the interaction between this SNP and smoking affects CBF and CVR in subjects without any signs of cerebrovascular disorders. We also confirmed complete linkage disequilibrium between T-786C and ecNOS4 a/b in a Japanese population.

Methods

Subjects

Twelve hundred seventy-two consecutive participants (727 males and 545 females) who voluntarily visited the Shimane Institute of

Received September 25, 2001; revision accepted January 31, 2002.

From the Department of Laboratory Medicine (S.N., T.N., J.M.), Central Clinical Laboratory (H.S., H.M.), and the Third Department of Internal Medicine (K.Y., S.K.), Shimane Medical University, and the Shimane Institute of Health Science (T.N., K.Y., S.K.), Izumo, Japan.

Correspondence to Toru Nabika, MD, Department of Laboratory Medicine, Shimane Medical University, Izumo 693, Japan. E-mail nabika@shimane-med.ac.jp

© 2002 American Heart Association, Inc.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. is available at <http://www.atvbaha.org>

DOI: 10.1161/01.ATV.000013286.60021.FE