

2004-00745A

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

外傷性中枢神経障害のリハビリテーションにおける
科学的解析法と治療法の確立に関する研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 杉本 壽

平成 17(2005)年4月

目次

I. 総括研究報告書	
外傷性中枢神経障害のリハビリテーションにおける科学的解析法と治療法の確立 に関する研究	1
杉本 壽	
II. 分担研究報告書	
1. 意識障害患者での下肢に対する早期リハビリテーションの効果の検討	22
塩崎 忠彦	
2. 長期植物状態からの回復過程の解明	30
塩崎 忠彦	
3. Hybrid PET による脳ブドウ糖代謝の定量的測定	37
畑澤 順	
4. 外傷性脳損傷後の高次神経機能の変化について	42
池尻 義隆	
5. 神経細胞の樹状突起における蛋白質合成をリアルタイムに可視化する手法の確立	47
森 泰丈	
6. Src family kinase inhibitor PP1 による脊髄損傷後の二次的損傷抑制効果の検討	51
吉峰 俊樹	
7. 脳浮腫における水選択性チャンネル蛋白(AQP)の役割に関する研究	54
種子田 護	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	57
IV. 研究成果の刊行物・別冊	58

総括研究報告書(こころの健康科学研究事業)

「外傷性中枢神経障害のリハビリテーションにおける科学的解析法 と治療法の確立に関する研究」

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、厚生労働科学研究費補助金による重症頭部外傷の「急性期治療」ならびに「急性期以降の回復過程」について、我々が行った6年間の研究成果をさらに発展させ、超急性期治療終了直後(受傷後1週間)から中枢神経系の賦活と下肢運動機能の温存に主眼を置いた早期リハビリテーションを積極的に開始し、急性期治療終了後(受傷1ヵ月)の後期リハビリテーションに繋ぐことによって、重症頭部外傷患者の中枢神経系機能予後の飛躍的な改善を図ることを目指している。『重症頭部外傷急性期から慢性期への移行期に生じている病態を解明すること』、『病態に即して意識回復を積極的に促進する移行期での治療法を開発すること』、『長期的な脳機能回復を積極的に促進するために早期から慢性期にかけて一貫した治療法(リハビリテーションを含む)を開発すること』を本研究の柱とし、以下の研究を行った。

臨床研究では、

1. 意識障害患者での下肢に対する早期リハビリテーションの効果の検討
2. 長期植物状態からの回復過程の解明
3. 長期植物状態からの意識回復・非回復を決定する因子の解明
4. 損傷した中枢神経の年単位での長期的な回復過程の解明
5. 長期植物状態からの回復予知法・回復促進法の開発
6. 意識回復例での高次脳機能障害の回復機構の解明と回復促進法の開発

基礎研究では

7. 動物ならびに培養細胞を用いた脳損傷モデルにおける中枢神経再生機構の解明

(1) 意識障害患者での下肢に対する早期リハビリテーションの効果の検討

意識障害患者に対して通常他動的関節可動域運動を施行した場合の下肢筋肉の萎縮経過を、6例(11肢)で筋肉の断面積をCT画像上で計測して客観的に評価を行った。驚くべきことに、6週間の経過で大腿四頭筋、大腿二頭筋、下腿前頸骨筋群、下腿三頭筋の総てが来院時の60~70%にまで断面積が減少していた。同時に、意識障害患者の下肢筋肉に電気刺激を加えた場合の筋萎縮予防効果についてのpilot studyも開始し、平成16年12月の時点で3例(5肢)が終了した。その結果、CPK上昇や体温上昇などの有害事象を惹き起こすことなく、1週間の電気刺激(発症後1週~2週の間)で、全ての部位で平均1%の萎縮に留めることに成功した(前述の通常経過では11~13%萎縮)。Pilot studyで非常に良好な結果が得られたので、受傷(発症)7日後から42病日の5週間にわたって下肢筋肉に電気刺激を加えた場合の筋萎縮予防効果を明らかにする研究を開始した。平成17年3月の時点で1例(2肢)が終了し、電気刺激を加えている期間(第7病日から42病日)は下肢総ての部位で4%以内の萎縮に留めることに成功した。

平成17年度は症例数を増やし、受傷(発症)7日後から42病日の5週間にわたって下肢筋肉に電気刺激を加えた場合の筋萎縮予防効果を明らかにする。

(2) 長期植物状態からの回復過程の解明

平成14年2月から開始した多施設研究(10都府県26施設)を継続し、重症頭部外傷後に長期間植物状態を呈している患者の長期予後の実態を正確に把握する。平成17年3月の時点で

19 例がエントリーしている。平成 17 年度も引き続き症例のエントリーを継続する。

(3) 長期植物状態からの意識回復・非回復を決定する因子の解明

平成 17 年 3 月の時点(14 例)では、1 年以内に意識の回復した患者では、受傷 1 ヶ月後の髄液中 IL-1 β 濃度が意識回復の遷延している患者に対して有意に低いという結果($p < 0.05$)が得られている。平成 17 年度も引き続き症例のエントリーを継続し、重症頭部外傷受傷 1 ヶ月の時点で 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、等)を施行して、意識回復・非回復に影響を及ぼす因子を明らかにする。

(4) 損傷した中枢神経の年単位での長期的な回復過程の解明

平成 16 年度の研究で、『受傷から 3 年間全く便意を訴えなかった症例が、3 年 4 ヶ月後に突然便意を訴えて便器で排泄できるようになった』事実が判明した。当院で 8 年前から prospective に施行している予後追跡調査(平成 17 年 3 月現在で 37 例)をさらに継続し、損傷した中枢神経の年単位での長期的な回復過程を解明する。

(5) 長期植物状態からの回復予知法・回復促進法の開発

PET よりも汎用性の高い画像システム(SPECT を改良した Hybrid PET)を用いて脳グルコース消費量を画像化することに成功した。平成 15 年度の測定法では文献値と比較して 50% 高い脳ブドウ糖消費量であったが、平成 16 年度の研究で散乱同時計数補正、偶発同時計数補正、相互補正、動脈血放射能濃度測定の精度改善(入力関数の精度改善)を行った結果、文献値と一致する脳ブドウ糖消費量が得られた。さらに、Hybrid PET によって得られる機能画像を MRI や CT などの形態画像と重ね合わせるソフトウェアも開発した。平成 17 年度は、Hybrid PET によって得られる画像と CT や MRI 画像との統合画像を作成し、外傷性脳損傷の新たな評価法を開発する。

(6) 意識回復例での高次脳機能障害の回復機構の解明と回復促進法の開発

平成 17 年 3 月までの研究で、39 例の初期評価(受傷 1 ヶ月の時点での高次脳機能検査)と 20 例の追跡調査(2 例は初期から全く高次脳機能障害を認めず)が行われた。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、何らかの高次脳機能障害が 84% の高頻度(受傷 1 ヶ月の時点で 39 例中 34 例)で生じていた。受傷 1 ヶ月の時点で高次脳機能障害を認め、かつ追跡調査が可能であった 18 例のうち、8 例(44%)が追跡調査期間中に完全回復、6 例(33%)が一部回復、4 例(22%)は経過中全く改善を認めなかった。さらに、記憶機能障害は右半球損傷 > 左半球損傷 > 両側半球損傷の順で回復しやすいが、前頭葉機能障害はいずれの損傷においてもより回復しがたいことも追跡調査の結果から明らかになった。

(7) 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

(i) 神経細胞の樹状突起における蛋白質合成をリアルタイムに可視化する手法の確立

樹状突起再生時に軸索末端部分で蛋白質合成が起きるのか、また起きるとすれば末梢部での翻訳が軸索再生にどの程度寄与しているのかは全く解明されていない。我々は、翻訳開始時に起きる翻訳開始因子どうしの分子間相互作用の変化を FRET(Fluorescent Resonance Energy Transfer)を用いて可視化することにより、翻訳の過程そのものを指標とする手法を開発した。

(ii) 脳浮腫における水選択性チャンネル蛋白(AQP)の役割に関する研究

マウス stab wound モデルでは、脳損傷後 24 時間では脳水分含有量の増加は認めず、AQP4 mRNA 発現量も変化を認めなかった。しかし、脳損傷後 48 時間後より脳水分含有量の増加、すなわち外傷性脳浮腫の発生と AQP4 mRNA 発現上昇を認めた。今回の研究により、脳梗塞部位あるいは脳挫傷部位における組織浸透圧上昇→脳浮腫発生→水チャンネル AQP4 発現増加→脳浮腫悪化という脳浮腫が増悪する悪循環の一端を、初めて分子レベルで解明することに成功した。

分担研究者
鳴津 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
鍛方 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
畑澤 順 大阪大学大学院医学
系研究科レーザー情報解析学教授
池尻 義隆 大阪大学大学院医学
系研究科神経機能医学助手
森 泰丈 大阪大学大学院医学
系研究科機能形態学助手

A. 研究目的

本研究の目的は、損傷した中枢神経が長期的には回復する可能性が高いことを前提として、急性期早期から慢性期にかけて一貫して積極的に治療・介護し、より完全な社会復帰を実現することにある。

平成 15～17 年度ころの健康科学研究事業では、我々は特に『下肢運動機能の温存に主眼を置いた早期リハビリテーションの開発』に重点を置いて臨床研究を進めている。我々は平成 12～14 年度のころの健康科学研究事業で、植物状態から意識の回復した重症頭部外傷患者 15 例の日常生活動作(ADL)を継続的に長期間追跡調査(最低 3 年以上)したところ、『受傷 3 年後には、全例が上肢を使用することが可能であったのに対し、補助器具を用いても何とか歩行が可能な症例(自力歩行も含む)はわずか 8 例と約半数しかいない』ことが明らかになった。この事実は、『植物状態を呈していた患者が意識を回復しても、筋の廃用性萎縮による下肢の運動機能障害が著しいために車椅子

生活を余儀なくされ、ADL が非常に障害されている』ことを如実に物語っている。これに対する根本的な治療法を開発して解決策を講じなければ、長期植物状態からの意識回復予知法あるいは意識回復促進法をいくら開発しても、宝の持ち腐れになることは言を待たない。

この研究を開始するにあたり、最初に我々の脳裏に浮かんだ疑問は、『意識障害患者に対して通常の他動的関節可動域運動を施行した場合に、実際に、どれぐらいの期間で、どの程度、下肢筋肉が萎縮するのだろうか?』という素朴な疑問であった。しかし、文献を調べてみると、我々が渉猟した限りでは、発症後(受傷後)何週間で何%どの筋肉が萎縮すると具体的に記載している文献は、英語論文も含めて皆無であった。発症(受傷)から数週間経過した後の萎縮した下肢筋肉の断面積を測定した報告や下肢筋肉が萎縮するという報告は散見できるが、発症(受傷)直後から継続して萎縮経過を計測した報告は見当たらなかった。意識障害を呈している患者は、通常、発症(受傷)後 2～3 週間

の急性期は救命救急センターで治療を受け、其の後の亜急性期から慢性期にかけては後送病院で治療を受けることが多い。しかも、慢性期治療のことなどほとんど考慮することなく、救命救急センターは急性期の治療だけに専念してきた。したがって、このような医療事情の下では、意識障害患者で発症(受傷)から経時的に下肢筋肉萎縮の経過を計測することは非常に困難であった。

そこで、我々は平成 15 年度から、意識障害患者に対して通常他動的関節可動域運動を施行した場合の下肢筋肉萎縮経過を、CT 画像上で計測して数値的に明らかにする研究を開始した。また、筋萎縮予防に関する pilot study として、平成 15 年度は他動的『自転車こぎ運動』による筋萎縮予防効果を検討したが、思うほどの成果を得ることができなかつたので、今年度は断続的に電気刺激を加えた場合の筋萎縮予防効果についての pilot study を行った。

B. 研究方法

臨床研究:

1. 意識障害患者での下肢に対する早期リハビリテーションの効果の検討:

【対象】通常他動的関節可動域運動を施行した場合の下肢筋肉の萎縮経過を CT 画像上で筋肉の断面積を計測して客観的に評価した研究の対象患者は、2003 年 9 月以降に大阪大学医学部附属病院救命救急センターに搬送され、急性期に意識障害を呈していた重症頭部外傷患者 3 例(23 歳女性、72 歳男性、72 歳女性)と脳出血患者 3 例(56 歳男

性、63 歳男性、68 歳女性)の計 6 例である。

意識障害患者の下肢に対して電気刺激を加えた場合の筋萎縮予防効果についての pilot study の対象患者は、重症頭部外傷患者 1 例(63 歳男性)と脳出血患者 2 例(65 歳男性、67 歳男性)の計 3 例である。

【方法】意識障害患者に対して通常他動的関節可動域運動を施行した場合の下肢筋肉(大腿四頭筋、大腿二頭筋、下腿前頸骨筋群、下腿三頭筋)の 6 週間にわたる萎縮経過を、CT 画像上で筋肉の断面積を計測することにより数値を用いて客観的に評価した。

同時に pilot study として、病態の安定した第 7 病日から第 13 病日までの 1 週間、下肢伸側(大腿四頭筋・下腿前頸骨筋群)と下肢屈側(大腿二頭筋・下腿三頭筋群)に一日 30 分ずつ電氣的筋肉刺激を与えた。第 7 病日と第 14 病日に、同様に CT 画面上で筋肉の断面積を計測し、他動的関節可動域運動のみを施行した患者の経過と比較した。電氣的筋肉刺激には市販されている東レアイリーブ社製トレリートを使用した(図 1)。これは各種スポーツ選手の筋肉増強に広く使われている機器で、体の部位によってそれぞれの筋肉特性に基づいたプログラム設定がされており、刺激したい部位に電極を貼付するだけで簡単に使用できるようにできている。スケジュールとしては、トレリートのプログラムに従って部位別モードで一部位につき、ウォームアップ 3 分・トレーニング 25 分・クールダウン 2 分の計 30 分ずつ電氣的筋肉刺激を施行した。トレ

ニング中は約 10 秒ごとに筋肉の収縮と弛緩が繰り返され、出力は外観的に筋収縮が確認できる 30~40mA とした。実際には2台のトレイトを接続して1台で両下肢の同じ部位を同時に刺激したため、一日の刺激時間は 60 分となった(図1)。

2. 長期植物状態からの回復過程の解明:

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。

【対象】頭部外傷受傷後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)を呈している症例で、年齢制限は設けなかった。

【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)を用いて評価する。

3. 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:

【対象】上記の多施設研究患者を対象とした。

【方法】重症頭部外傷受傷1ヶ月の時点で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、等)を施行し

て、意識回復・非回復に影響を及ぼす因子を検討した。

4. 損傷した中枢神経の年単位での長期的な回復過程の解明:

【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35症例(平均年齢45±19、男/女=27/8)である。30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5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。

5. 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:

【対象及び方法】

Positron emission tomography (PET) は、変性疾患、頭部外傷、てんかんなど中枢性神経系疾患の病態解析、診断に用いられている。Hybrid PET は、単

光子放出核種の γ 線と陽電子放出核種の消滅 γ 線の両者を検出するユニークな測定システムである。PET専用機と比較して汎用性が高く、2-deoxy-[^{18}F]fluoro-D-glucose(^{18}F FDG)による悪性腫瘍イメージングに用いられている。一方、脳ブドウ糖代謝の定量的測定は行われておらず、機能解析の手法としての精度は確立されていない。本装置の脳ブドウ糖代謝定量測定における測定精度を検討するため、健常被験者に、本装置と脳血流代謝測定装置としてのgolden standardであるPETを用いて脳ブドウ糖代謝の定量測定を行った。

健常被験者4例(男性4例、平均年齢 22.8 ± 1.9 才)に対して5時間以上の絶食後に ^{18}F FDG 111MBqを静注した。Arterial input curveを求めるために静注と同時に橈骨動脈より動脈血サンプリングを開始した。静注後50分から10分間PET装置Headtome V/SET 2400 system(Shimadzu Co, Ltd)にて、静注後70~110分後から30分間Hybrid PET装置VERTEX Plus MCD(ADAC Laboratories, Milpitas, CA)にて撮像を行った。PETでは外部線源による測定に基づく吸収補正を行い、Hybrid PETでは仮想的線源計数によるChangの吸収補正法を用いた。脳ブドウ糖消費量は、Sokolofの原法(Brooksによる改変)とPhelpsらの手技に従い、モデル速度定数($K_1=0.102$, $k_2=0.130$, $k_3=0.062$)、lumped constant(0.42)を用いて計算した。

6. 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4月1日以降に当院救命救急センターに入院した頭部外傷患者のうち、いわゆる高次脳機能障害が疑われた患者で、かつ神経心理学的検査が可能であった39例(男28例、女11例)、平均年齢34才(15~68才)である。

【方法】各患者に、意識障害から回復し検査可能となった時点(受傷後約1週間~1ヶ月)(初期評価)と、その後6ヶ月毎に以下の認知機能検査をおこない(追跡評価)、MRIで同定された損傷脳部位との関連を検討した。認知機能検査は、全般性認知機能評価としてMini Mental State Examination(MMSE)、言語機能評価として標準失語症検査(SLTA)、記憶機能評価としてWechsler Memory Scale-Revised(WMS-R)、前頭葉機能評価としてRaven's colored progressive matrices(RCPM)、Trail making test(TMT)、語想起課題を用いた。なお、追跡調査を実施した症例の一部では前頭葉機能検査を実施していないので、結果の解析からは除外した。

基礎研究:

7. 動物ならびに培養細胞を用いた脳損傷モデルにおける中枢神経再生機構の解明:

(i) 神経細胞の樹状突起における蛋白質合成をリアルタイムに可視化する手法の確立:

1) FRETプローブの検討

異なる吸収波長を有する蛋白質であるYFPとCFPをeIF2 β とeIF5にそれぞれ融合させた蛋白質を発現するプラ

スミドを作製した。YFP-eIF2 β 、CFP-eIF5をCMVプロモーターの下流から発現させるコンストラクトを作製し、NIH-3T3細胞に強制発現させたが、十分な発現を得られず、また相互作用を確認することができなかつたので、この2種類のプローブを、スパーサーを介して1分子に再構成し(YFP-eIF2 β /eIF5-CFP)、一過性に強制発現させた。NIH-3T3細胞は10%ウシ血清存在下で培養し、70%コンフルエントに達したところでリポフェクション法を用いてトランスフェクトをおこなった。発現を確認した後、無血清培地で24時間培養し、20%v/vになるようにウシ血清を添加し100W水銀ランプでプローブを励起させながらLeica社製DM IRE2 microscopeで細胞の観察をおこなった。画像の解析処理はMetaMorph softwareでおこなった。

2) ラット海馬初代神経細胞を用いての観察

胎生18日目のラット胎児脳から海馬を摘出し、ポリエチレンイミンでコートしたガラスボトムディッシュ上にニューロンの初代培養系を確立した。B27サブプリメント(Invitrogen社)を添加したDMEMで21日間培養すると、樹状突起上のシナプスはスパインとして観察された。

海馬培養神経細胞にはアデノウイルスを用いることにした。YFP-eIF2 β /eIF5-CFPをアデノウイルス発現ベクターにクローニングし、HEK293Aにトランスフェクトすることによりウイルス粒子を得た。ウイルス粒子は実験2日前に神経細胞へ感染させた。

(ii) 脳浮腫における水選択性チャネル蛋白(AQP)の役割に関する研究

1. in vitro 実験:

マウス由来のアストロサイト細胞を分離し培養系を確立した。アストロサイト培養細胞に高浸透圧刺激を加えた。さらに、低温度養条件下において高浸透圧刺激を加えた。培養細胞よりRNAを抽出し、AQP4 mRNA発現について高感度定量的PCR装置を用いたquantitative RT PCR法にて検討した。

2. in vivo 実験:

マウス脳にstab woundsを加え、経時的に損傷脳の脳水分含有量を乾燥重量法にて検討した。損傷脳よりRNAを抽出し、AQP4 mRNA発現について高感度定量的PCR装置を用いたquantitative RT PCR法にて検討した。

C. 研究結果

臨床研究:

1. 意識障害患者での下肢に対する早期リハビリテーションの効果の検討:

意識障害患者に対して通常その他動的関節可動域運動を施行した場合の下肢筋肉の萎縮経過を、CT画像上で筋肉の断面積を計測して客観的に評価した。入院時の断面積を100%とすると、発症から6週間の経過で、大腿四頭筋(膝蓋骨から10cm頭側)、大腿二頭筋(膝蓋骨から10cm頭側)、下腿前頸骨筋群(膝蓋骨から10cm足底側)、下腿三頭筋(膝蓋骨から10cm足底側)はそれぞれ66 \pm 5.1%、64 \pm 9.9%、60 \pm 9.8%、71 \pm 9.4%にまで断面積が減少していた。同時に、意識障害患者の下肢に対して電

電気刺激を加えた場合の筋萎縮予防効果についての pilot study を行い、平成16年12月の時点で3例(5肢)が終了した。1週間(第7病日～第13病日)の電気刺激により、大腿四頭筋が $99.1 \pm 0.9\%$ 、大腿二頭筋が $98.9 \pm 0.6\%$ 、下腿前頸骨筋群が $98.6 \pm 0.9\%$ 、下腿三頭筋が $98.8 \pm 0.7\%$ と、総ての部位で平均1%の萎縮に留めることに成功した(図2)。なお、この『電氣的筋肉刺激』の施行中及び施行直後に血圧上昇、脈拍数増加、体温上昇を認めたが、どれも軽微なものであり、患者の病態には全く影響を与えなかった。また、経過中の筋逸脱酵素の上昇も認めなかった。

Pilot study で非常に良好な結果が得られたので、平成17年1月からは、受傷(発症)7日後から42病日の5週間にわたって下肢筋肉に電気刺激を加えた場合の筋萎縮予防効果を明らかにする研究を開始し、平成17年3月の時点で1例(脳幹出血、57歳男性)での測定が終了した。図3に来院時から42病日に至る右大腿部断面CT画像の経日的推移を示す。電気刺激を加えている期間(第1週～第6週)は下肢総ての部位で4%以内の萎縮に留めることに成功した(図4)。

2. 長期植物状態からの回復過程の解明:

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17年3月の時点で未だ19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、さらに③2002年6月1日から飲酒運転に伴う罰則が強化されたことにより重症頭部外傷患者が激減したこと、が大きな要因であると考えられる。

現時点では、長期経過が追跡できているのは19症例であり、症例数が少ないために回復過程を明らかにするには至っていない。

3. 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:

平成17年3月の時点で、14例(男9例/女5例)での髄液中興奮性アミノ酸濃度、髄液中各種インターロイキン濃度の測定が終了した。1年以内に意識の回復した5例と遷延性意識障害が続いている9例との比較は次のようになった(M±SD)。

	意識回復群 5例		非回復群 9例
<i>IL-1β</i>	0.38 ± 0.19	※	0.84 ± 0.32
<i>IL-6</i>	22.7 ± 22.7	NS	15.4 ± 15.6
<i>IL-8</i>	106 ± 43	NS	103 ± 53
<i>IL-10</i>	8.65 ± 13.6	NS	6.19 ± 10.5
<i>TNFα</i>	1.57 ± 0.57	NS	1.73 ± 1.06
<i>IL-1ra</i>	124 ± 69	NS	78 ± 43
<i>sTNFα</i>	908 ± 437	NS	1052 ± 325

以上、単位は pg/ml。※ $p = 0.013$

図1

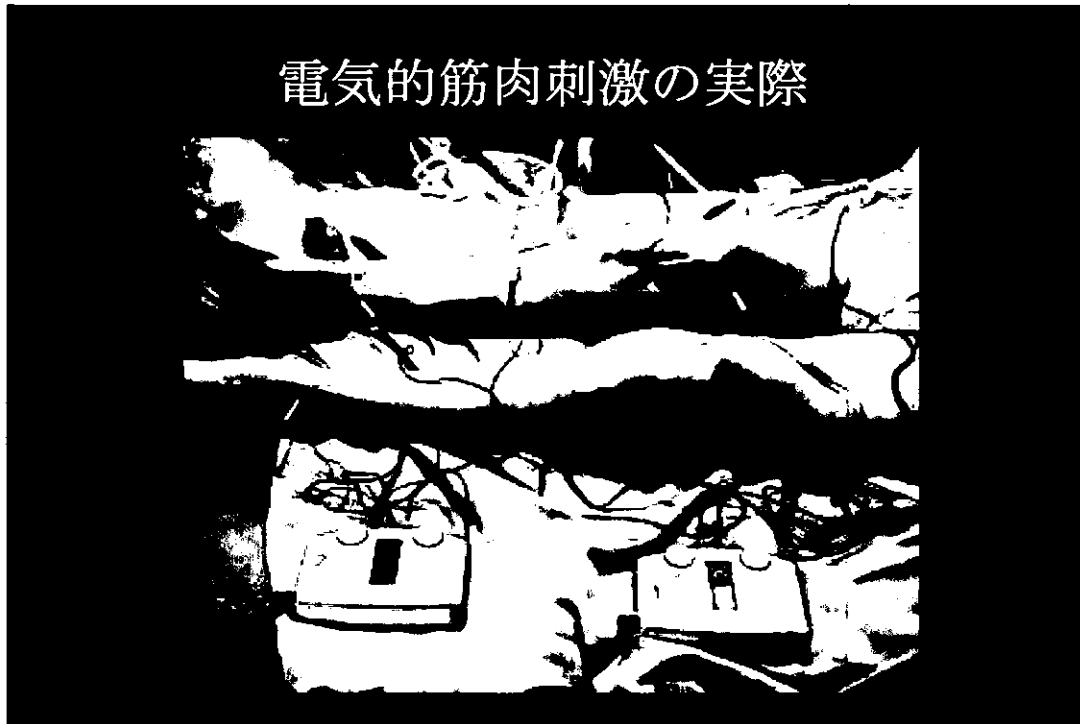


図2

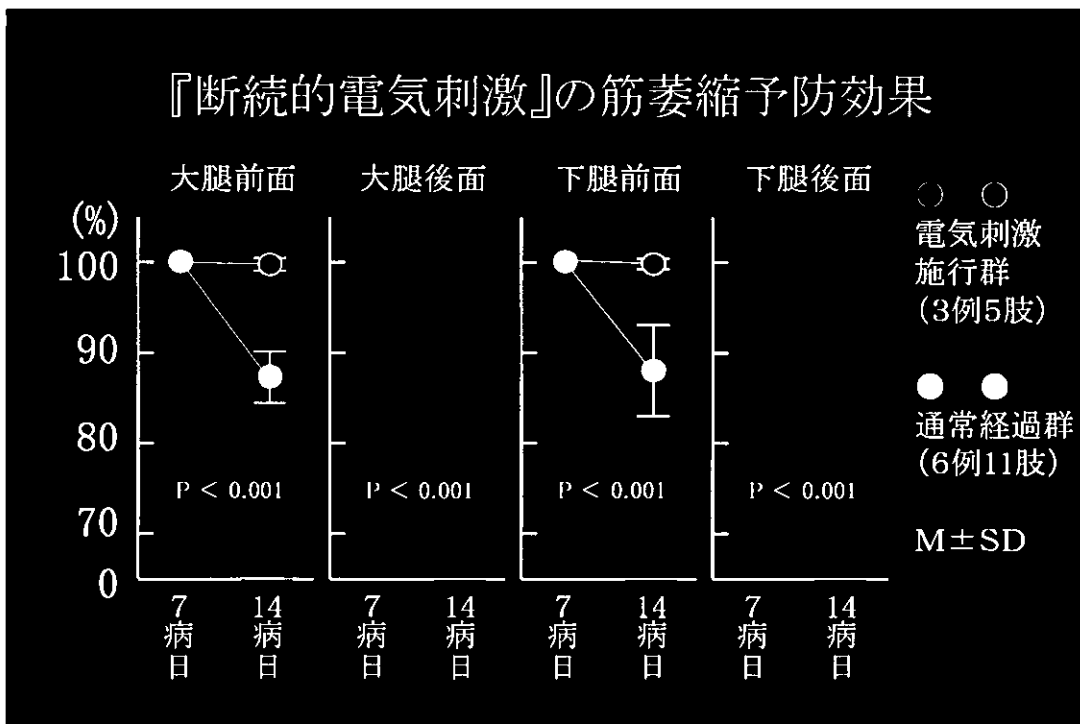
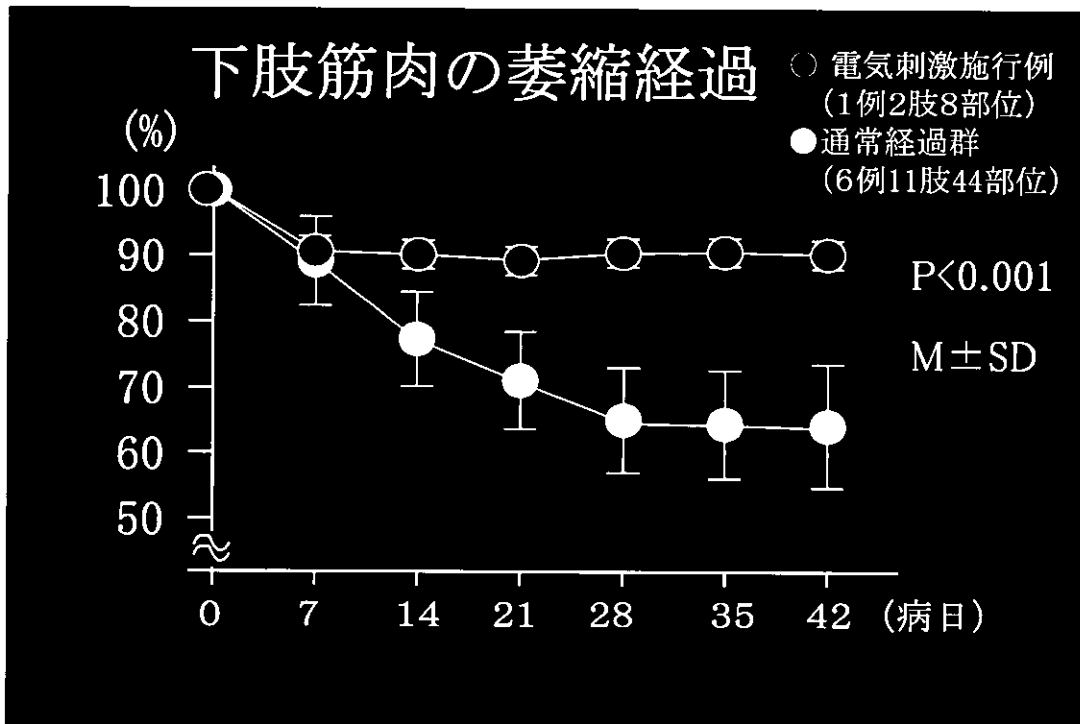


図3



図4



	意識回復群 5例		非回復群 9例
グルタミン酸	not detected		not detected
アスパラギン酸	13.2±6.09	NS	10.4±2.44
グリシン	21.3±21.5	NS	12.9±5.7

以上、単位は n mol/ml。

現時点では症例数は少ない(14例)が、1年以内に意識の回復した患者では、受傷1ヶ月後の髄液中IL-1 β 濃度が意識回復の遷延している患者に対して有意に低いという結果(p<0.05)が得られている。

他の検査項目(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)では意識回復群と非回復群との間に有意差は得られていない。

4. 損傷した中枢神経の年単位での長期的な回復過程の解明:

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35例の意識回復過程を追跡調査した(全例1年以上、最長7年5ヶ月)。21例(60%)が平均5.0±5.2ヶ月で意識を回復した。9例(25.7%)が感染症で死亡したが、受傷から1年以内の死亡は2例(5.7%)のみであった。

この長期予後追跡調査の過程で、平成15年度は次に示す2つの新しい知見を得ることができた。

- ① 意識が回復した後、摂食 \gg 排泄 \geq 整容の順番で、認知能力も年単位

で緩徐に改善していく。

- ② 受傷から3年間全く便意を訴えなかった症例が、3年4ヵ月後に突然便意を訴えて便器で排泄できるようになった。

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。

5. 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:

PETでの脳ブドウ糖消費量定量値と比較すると、Hybrid PETでの定量値は約10~23%低値であったが、PETとHybrid PETで測定した脳ブドウ糖消費量定量値の間には比較的良好な正相関が認められた(r=0.759)。

局所での検討を行うと、視床や橋ではHybrid PETでの脳ブドウ糖代謝定量値は、PETに比較して有意に低値であった(p<0.05)。

6. 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:

平成17年3月までの研究で、39例の初期評価(受傷1ヶ月の時点での高次脳機能検査)と20例の追跡調査(2例は初期から全く高次脳機能障害を認めず)が行われた。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、何らかの高次脳機能障害が84%もの高頻度(受傷1ヶ月の時点で39例中34例)で生じていた。受傷1ヶ月の時点で高次脳機能障害を認め、

かつ追跡調査が可能であった18例のうち、8例(44%)が追跡調査期間中に完全回復、6例(33%)が一部回復、4例(22%)は経過中全く改善を認めなかった。さらに、記憶機能障害は右半球損傷>左半球損傷>両側半球損傷の順で回復しやすいが、前頭葉機能障害はいずれの損傷においてもより回復しやすいことも追跡調査の結果から明らかになった。

基礎研究:

7. 動物ならびに培養細胞を用いた脳損傷モデルにおける中枢神経再生機構の解明:

(i) 神経細胞の樹状突起における蛋白質合成をリアルタイムに可視化する手法の確立:

われわれは翻訳開始時に起きる翻訳開始因子どうしの分子間相互作用の変化を FRET (Fluorescent Resonance Energy Transfer) を用いて可視化することにより、翻訳の過程そのものを指標とする手法の開発を考案した。翻訳開始因子複合体のなかで直接相互作用を起こす eIF2 β サブユニットと eIF5 のそれぞれを CFP および YFP で標識した蛍光プローブをラット海馬神経細胞に強制発現させ、結合・解離の動態を FRET でモニタリングする方法を採った。神経細胞を BDNF や ephrinB2 で刺激すると、樹状突起において青色励起波長で得られる吸収波長が長波長側から短波長側へ、すなわち黄色から青色へ変移することがわかった。

本研究において翻訳開始点における蛋白質の相互作用を利用した FRET

プローブが、蛋白質合成の増加時においては蛍光エネルギーの転移反応の減少をおこし、 Em_{475} / Em_{533} 値の増大として観察できることが分かった。これは翻訳開始前の段階ですでに翻訳開始因子は eIF2 β や eIF5 を含む複合体を形成しており (multi-factor complex)、この複合体は mRNA に結合し開始コドン を認識すると、複合体としての分子間結合が解離するという現象と一致する。

(ii) 脳浮腫における水選択性チャンネル蛋白(AQP)の役割に関する研究

マウス stab wound モデルでは、脳損傷後 24 時間では脳水分含有量の増加は認めず、AQP4 mRNA 発現量も変化を認めなかった。しかし、脳損傷後 48 時間後より脳水分含有量の増加、すなわち外傷性脳浮腫の発生と AQP4 mRNA 発現上昇を認めた。今回の研究により、脳梗塞部位あるいは脳挫傷部位における組織浸透圧上昇→脳浮腫発生→水チャンネル AQP4 発現増加→脳浮腫悪化という脳浮腫が増悪する悪循環の一端を、初めて分子レベルで解明することに成功した。

D. 考察

長期間意識障害を呈していた患者が幸運にも意識を回復しても、筋の廃用性萎縮による下肢の運動機能障害が著しいために車椅子生活を余儀なくされ、ADL が非常に障害されることは、昔から経験的によく知られている。しかし、意識障害患者にみられる下肢の廃用性萎縮は『しかたがないもの』として認識されており、科学的に解明しようという試み

は、我が国だけでなく世界的に見てもなされてこなかった。経験的には知られていても、科学的には明らかにされていない医学的常識は現在でも多々存在し、平成 12～14 年度ころの健康科学研究事業で我々が明らかにした『中枢神経の長期的な可塑性』に関しても、我々が prospective な長期追跡調査を行った結果、初めて科学的に証明できた事実である。今回の研究のメインテーマである『意識障害患者の下肢廃用性萎縮』に関しても、教科書や成書に記載されている事項を詳しく調べてみると、実は『経験的にはよく知られているが実はほとんど何も解決されていない未知の領域』であることが判明した。

例えば、意識障害患者で下肢筋肉が萎縮することは事実として認識されているが、発症時(受傷時)からの経時的なデータがないために、後送病院でリハビリテーションを開始する段になって『もとの状態に比べてどの程度筋肉が萎縮しているのか?』が全くわからず、手探りの状態で漠然とリハビリテーションを開始することになる。

そこで、意識障害患者での下肢に対する早期リハビリテーションの効果を検討するためには、まず次の①～③の事項を実施して研究の基本となる基礎データを作成することが必要不可欠であると考えた。

1. 意識障害患者の下肢萎縮経過を prospective に追跡調査する。
2. CT で筋肉の断面積を測定し、『下肢の萎縮経過』を客観的に評価する。
3. ①②によって『意識障害患者の下

肢筋肉萎縮経過に関する基本データ』を作成する。

平成 15, 16 年度の研究で、まず『意識障害患者では、随意運動が困難な下肢は、6 週間の経過で断面積で計算して受傷時(発症時)の約 65%にまで萎縮する』ことが判明した。これは非常に由々しき事態であり、病悩期間が長くなれば下肢運動機能が廃絶するものも納得がいく。何らかの予防措置をとらなければいけないことは明白である。

しかし、我々が今年度に行った pilot study の結果から、『下肢筋肉に対する電気刺激』で十分に筋萎縮を予防できるという手ごたえを我々は得た。現時点ではまだ 1 例(2肢)だけであるが、1 日わずか1時間の電気刺激を加えるだけで 5 週間(第7病日から第 42 病日)もの長期間にわたって下肢総ての筋肉で 4%以内の萎縮に留めることに成功した研究結果は、『この方法を用いて早期から計画的にリハビリテーションを施行すれば、意識障害患者の下肢廃用性萎縮を十分に予防できる』との確信を我々に抱かせるのに十分な結果であった。

我々が用いている機器は、消費者団体によって安全性も確立されており、小型軽量(約 180g)で使いやすい上に、比較的安価(1 台5～6万円)で購入できる。この研究に成功すれば、患者家族が自宅の『ベッドサイド』で、『比較的安価な装置』を用いて、『簡便な方法』で、下肢の廃用性萎縮を予防する事が可能となり、下肢の筋力維持に関しては急性期から家庭まで一貫したリハビリテーションを行うことが可能となる。我々

の研究成果の一部が、2005年3月25日の朝日新聞朝刊(関西版、関東版、北海道版、等)やアサヒ・コム(インターネット版朝日新聞)に、『電気刺激によって下肢筋肉の萎縮が予防できる』という記事(図5)で掲載されるや、同日から現在に至るも全国の患者家族や関係者から研究結果に対する問い合わせや個別の相談が殺到しており、下肢の廃用性萎縮の問題に対して人々の関心がいかに高く、かつ深刻かを示している。この分野の研究は患者のQOL向上に直結するので、早急な基礎データ確立と臨床応用が望まれる。

長期間(半年や1年)臥床している意識障害患者を診察すると、両下肢が『枯れ枝』のように細くなっている、下肢の筋肉がほとんど残存していないと考えざるを得ない場面にしばしば遭遇する。今回の我々のデータでは、患者の下肢筋肉は6週間の経過で発症時の約65%でプラトーに達しているため、上記の事実と照らし合わせると、この後さらに萎縮が進行するのではないかと考えられる。あくまでも予想でしかないが、受傷(発症)から6週間までの萎縮は筋細胞の体積が減少した結果生じる萎縮、つまり『筋細胞がやせ細るだけで細胞数は減少しない筋萎縮』で、この時点で萎縮の進行を阻止することができなければ、本格的な筋萎縮、つまり『筋細胞の破壊による不可逆的な萎縮』が生じるのではないかと我々は考えている。『不可逆的な筋萎縮』が存在すると仮定した場合、それがいつ始まるのかを明らかにすることが臨床の上では非常に重要である。もし『不可逆的な筋萎縮』の

始まる時期が判明すれば、それまでに筋萎縮予防を目的としたリハビリテーションを開始することが必須となり、今まで漠然と行っていた早期リハビリテーションにも『科学的根拠に基づいた明確な数値目標』を掲げることが可能となる。『不可逆的な筋萎縮』がいつ始まるのかを明らかにするためには、受傷(発症)から6週間だけではなく、さらに長期的な筋萎縮経過の計測が必要であり、至急解明しなければいけない最重要課題の一つである。

多施設による研究では、受傷1ヵ月後に植物状態を呈している重症頭部外傷患者の長期予後追跡調査を行うだけではなく、受傷1ヶ月後の時点で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を施行し、意識回復・非回復に影響を及ぼす因子を明らかにする。現時点では、髄液の採取できている症例は14例と少ないが、意識の回復した患者は意識障害が遷延している患者に比べて髄液中インターロイキン1 β 濃度が有意に低い($p < 0.05$)というデータが得られている。多施設研究を継続して症例数を増やし、『意識障害が遷延する症例では髄液中インターロイキン1 β 濃度が高い』ことが判明すれば、意識回復促進の治療戦略として『インターロイキン1 β の拮抗剤を投与する』、『抗炎症作用物質を投与する』などの臨床に即した具体的な計画を立てることが可能になる。また、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を我々は明らかにしたが、脳血流量の減少が予後不良の原因となってい

るのならば、断続的な外部刺激や薬剤によって脳血流量を増加させることによって予後を改善することも可能になると考えられる。

重症頭部外傷慢性期では、医療従事者は暗中模索で治療を行い、患者家族は何の目標もなく介護を行っているのが現況である。長期追跡調査によって中枢神経の長期的な可塑性を明らかにし、介護の具体的な目標を示すことができれば、暗中模索状態であった医療従事者や患者家族の眼前に明々とした希望の火を灯すことができる。損傷した中枢神経機能の回復を促進する治療法を開発することができれば、医療従事者や患者家族にとってこの上ない福音となるだけでなく、医療経済・社会経済に及ぼす効果は計り知れない。下肢の廃用性萎縮の問題だけでなく、遷延性意識障害そのものに関しても人々の関心は非常に高い。我々の研究成果の中間報告が平成16年12月26日の読賣新聞に掲載(図6)され、その記事を基にした特集『植物状態でも諦めない…社会復帰を果たした男性の場合』が平成17年3月1日夕方6時の関西テレビで放映されるや否や、やはり同日から連日現在に至るも、全国の患者家族や関係者から研究結果に対する問い合わせや個別の相談が殺到している。このことは、遷延性意識障害患者の問題がいかに重要かつ深刻であるかを端的に示している。

基礎実験に関しては、次の2つの観点から研究を進めている。

1. 神経細胞再生時に最も盛んに再

生が行われていると考えられている樹状突起軸索末端で、どのような蛋白合成が行われているか、を明らかにする。

2. 神経損傷の過程を抑制することにより2次的損傷を最小限にする。

1. に関しては、翻訳開始点における蛋白質の相互作用を利用した FRET プロブが、蛋白質合成の増加時においては蛍光エネルギーの転移反応の減少をおこし、 Em_{475} / Em_{533} 値の増大として観察できることが分かった。これは翻訳開始前の段階ですでに翻訳開始因子は eIF2 β や eIF5 を含む複合体を形成しており (multi-factor complex)、この複合体は mRNA に結合し開始コドンを認識すると、複合体としての分子間結合が解離するという現象と一致する。平成17年度は、この分子プローブを用いて再生時の軸索で蛋白質の合成を観察する計画を立てている。

2. に関しては、2次性脳損傷の大きな要因である脳浮腫に最も関係が深いと考えられる『水』の制御を、水選択性チャンネル蛋白 (aquaporin; AQP) の観点から追求する研究を開始した。生理的条件下では細胞内のみならず細胞外腔においても水移動は多くの場合浸透圧格差に伴う水拡散により行われており、その水の通路が AQP と考えられている。今年度の研究により、AQP ファミリーは細胞内・細胞外腔の浸透圧変化に著明に反応する水チャンネルで、高浸透圧により AQP 発現上昇が認められること、AQP が脳浮腫を悪化させる因子の一つであること、が示唆された。

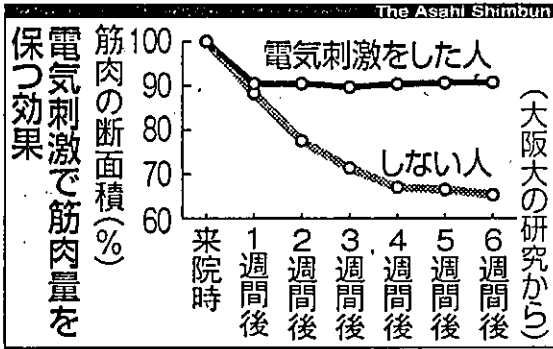
寝たきりの人 衰え予防

図5

電気刺激で筋肉維持

病气や大けがで意識不明

の寝たきり状態になった人の脚を電気刺激すると、筋肉量が保たれることが、大阪大病院高度救命救急セ



ンターの研究で分かった。寝たきりになると急激に脚の筋肉が衰え、回復してもリハビリに長い時間がかかったり、車いす生活になつたりする。この問題の解決に専門家も「朗報」と期待する。さいたま市で25日から開かれる日本神経外傷学会で発表される。

同センターの毛利智好医師と塩崎忠彦助手は頭の大けがなどで意識不明に陥った患者4人に、緊急救命治療が一段落した発病7日目から脚に電気刺激をした。

朗報にリハビリ

刺激は、筋肉を鍛える目的で使われる市販の器具を利用し、すね、ふくらはぎ、太もも前後の計4カ所に30分施す内容で、1日に2回、入院中毎日続けた。強度は30〜40ミリアンペアで、一流柔道選手がトレーニングに使う強度の5〜6割にあたるという。

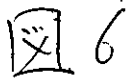
その結果、電気刺激をしない最初の7日間で筋肉の断面積は平均90%に減ったが、刺激を始めた後はそのまま90%前後を維持した。減り方に個人差はほとんど

なかった。一方、比較するため電気刺激をしなかった6人は、筋肉の断面積が平均65%に減った。

塩崎助手は「この刺激器具は、介護家族も使える。意識が戻った後の社会復帰の可能性を広げるのに役立つだろう」と話す。

(中村通子)

国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所の中澤公孝室長の話 筋肉の9割が保てれば、意識が戻った後の回復が早くなる。最新の研究では、筋肉への電気刺激は中枢神経にも好影響を与えることが分かっている。大変期待できる手法だと思ふ。



大阪府池田市の山田将徳さん(20)は、二〇〇〇年八月、交通事故で大阪大病院に運ばれた。重い脳損傷で、呼びかけても反応がなく、いわゆる「植物状態」だった。しかし三か月後から少しずつ意識を回復し、今は父親が営む雑貨店を手伝っている。物忘れが多いなどの症状が多少残る、独り立ちはまだ難しいが、今年五月には車の運転免許も取得した。(吉川 恭一)

遷延性意識障害

事故などによる脳の損傷で意識が長期回復しない場合、「遷延性意識障害」と呼ばれる。いずれ意識は戻るのか、どの程度まで回復するのか、家族にとって深刻な問題だ。大阪大救命救急センター医師の塩崎忠彦さんらは、一九九六年から同センターに搬入された、二か月以上意識不明の状態が続いた三十五人の病状を追跡調査した。

意識を取り戻したのは、六割にあたる二十一一人。うち二人は社会復帰した。一年以上たっても意識が戻ったり、数年後に言葉が出たりという具合に、ゆっくりにペースで回復する例も目立った。

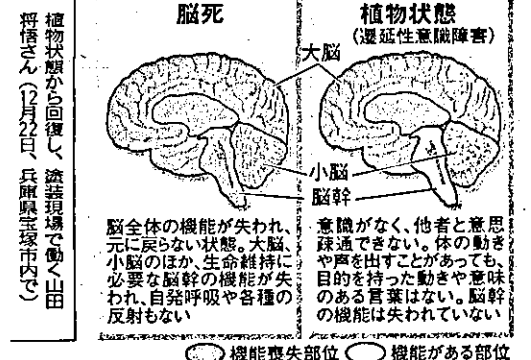
将徳さんの場合、頭部の骨折、脳挫傷、急性硬膜外血腫で当初から意識がなく、CT(コンピュータ断層撮影)による診断でも、脳の損傷度は、四段階のうち重い方から二番目だった。

父の繁信さん(47)によると、二目は開いていても反応がな状態。ところが三か月たつたあたりで吸引用の気管の穴をふさぎ、流動食を始めてから急激に回復し、呼びかける方向を返すようになった。

その後一か月の間に鉛筆で文字のようなものを書き出



1か月以上「植物状態」でも 6割回復



植物状態から回復し、流産現場で働く山田将徳さん(27)月22日、兵庫県宝塚市内で。

意識を取り戻したのは、六割にあたる二十一一人。うち二人は社会復帰した。一年以上たっても意識が戻ったり、数年後に言葉が出たりという具合に、ゆっくりにペースで回復する例も目立った。

1か月以上意識不明が続いた患者の予後 (大阪大救命救急センター、1996年以降、数字は人)

3か月以内に意識回復	1
3か月から1年で意識回復	2
1年以上たっても意識回復	3
意識回復せず	4
生存	5
死亡	6

努力続けて社会復帰も

遷延性意識障害から回復した患者の3年後の様子 (大阪大の15例、数字は人)

食事	1	2	3	4	5	6
排泄	1	2	3	4	5	6
歩行	1	2	3	4	5	6

完全に分でできる | 一部は自分でできる | 自力で不可能

死の危機を脱すれば、意識回復には影響しなかった。CT画像で右脳の機能がほとんどなくなった患者も、左半身は動かないものの、右手で食事し、会話できるまで回復した。逆にCTで右側見や脳圧などのデータが長くても意識が回復しない人もいた。

刺激が大切

遷延性意識障害に確立した治療法はない。しかし学会や雑誌には「二時的に人工呼吸器を外し、口から食べさせる」「仕事や趣味など過去の快い記憶に結びつく音を聞かせる」「好きな音楽を聴かせる」などで改善した例が報告されている。パーキンソン病治療薬の投与、脳への電気刺激、痛みや味覚の刺激で効果があったという発表もある。

大阪大の社会復帰例も、家族らが様々な刺激を与えたことが功を奏した可能性がある。繁信さんは連日午後、ずっと将徳さんに付き添い、耳元で話しかけた。好きな音楽の

交通事故から歩けるまでに

大阪府高槻市の会社員、齋藤都志さん(33)も二〇〇一年三月にバイク事故で大阪大病院に運ばれ、一か月間、意識がなかったが、ほぼ完全に回復した。九州から父親と看護師の妹が駆けつけて看病。体をたたくなどの刺激を与えることもあった。「意識が戻った後、車いす生活になると言われたが、必死で歩行訓練を頑張る。歩けるようになった」と話す。事故前のごとく忘れていたことも多いが、自分一から作った電化製品やエック用の複雑なプログラムはずいぶん思い出したという。

CDを流し続け、曲がった手指をマッサージした。意識が戻る、計算や読み書きを小学一年のレベルから教えた。本人も毎日、日記をつけた。塩崎さんは「こんなに頑張っても回復しないことも多いけれど、様々な努力を重ねることが意識回復に結びついているのは確か」とみる。

足の機能を保つ

意識を回復した人の半数以上は、自力で食事ができるようになり、ほとんどの場合は話も可能になった。受傷から三年以上経過して、急に話せるようになった人も六人いた。

だが、十八人には何らかの介護が必要な障害が残った。大半は、長期の寝たきり生活に陥る歩行障害だった。

そこで大阪大病院では、意識は戻るという前提で、足の筋力を保持する研究も始めた。寝たきりが続く、数週間でも筋肉量が60%に減ったが、電気刺激式マッサージを一日一時間行くと、その期間は筋肉が減らないという。

塩崎さんは「歩くことが脳に刺激を与え、回復を促す可能性もある。電気刺激が意識回復に好影響を与えるかどうかにも注目している」と話す。

平成 17 年度は、AQP 発現抑制が脳浮腫抑制とどのように関連するかを追及する予定である。

E. 結論

平成 15, 16 年度の研究により、『意識障害患者では、随意運動が困難な下肢は、断面積で計算すると 6 週間の経過で受傷時(発症時)の約 65%にまで萎縮する』ことが判明した。現時点では『筋萎縮が不可逆となるターニングポイント』を明らかにできていないので、発症から何週以内に下肢のリハビリテーションを始めるべきかについての数値目標を設定するには至っていない。しかし、意識が回復するのを待ってから下肢のリハビリテーションを始めても手遅れであることは明らかである。重症頭部外傷患者に限っていえば、受傷後 1 ヶ月の時点で植物状態を呈していても、6 割の患者が 1 年以内(平均 5 ヶ月)に意識を回復することが我々の研究から判明しているため、時期を失することなく下肢廃用性萎縮を予防するための早期リハビリテーションを開始するべきである。

我々は、『意識障害患者の下肢運動機能温存に主眼を置いた早期リハビリテーションの開発』に重点を置いて臨床研究を進めている。筋萎縮の予防に関しては、『廃用性萎縮による下肢筋肉萎縮は電気刺激で十分に予防できる』という手ごたえを我々は今回の研究結果から得ており、『この方法を用いて早期から計画的にリハビリテーションを施行すれば、意識障害患者の下肢廃用性萎縮を十分に予防できる』と我々は考え

ている。筋萎縮が不可逆となるターニングポイントを究明するためには、さらに長期間の prospective な計測と追跡調査が必要である。これら一連の臨床研究は、意識障害患者の QOL 向上に直結するので、早急な基礎データ確立と臨床応用が望まれる。

F. 研究発表

論文発表

(主任研究者)

1. Shiozaki T, Hayakata T, Tasaki O, Hosotubo H, Fujita K, Mouri T, Tajima G, Kajino K, Nakae H, Shimazu T, Tanaka H, and Sugimoto H: Cerebrospinal fluid concentrations of anti-inflammatory mediators in early-phase severe traumatic brain injury. *Shock* (in press)
2. Akimau P, Yoshiya K, Hosotsubo H, Takakuwa T, Tanaka H, Sugimoto H: New experimental model of crush injury of the hindlimbs in rats. *J Trauma* 2005, 58: 51-58.
3. Hayakata T, Shiozaki T, Tasaki O, Ikegawa H, Inoue Y, Fujinaka T, Hosotubo T, Fujita K, Yamashita T, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H: Changes in CSF S100B and cytokine concentrations in early-phase severe traumatic brain injury. *Shock* 2004, 22: 102-107.
4. Ogura H, Tanaka H, Koh T, Fujimi S, Nakamori Y, Hosotsubo H, Kuwagata Y, Shimazu T, Sugimoto H: Enhanced production of endothelial microparticles with increased binding to leukocytes in patients with severe SIRS. *J Trauma* 2004, 56: 823-830.
5. Nakamori Y, Fujimi S, Ogura H, Kuwagata Y, Tanaka H, Shimazu T,