

200500764A

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 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 杉本 壽

平成 18(2006)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 杉本 壽	1
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 塩崎 忠彦	23
2. 長期植物状態からの回復過程の解明 塩崎 忠彦	32
3. Hybrid PET による脳ブドウ糖代謝の定量的測定 畑澤 順	39
4. 外傷性脳損傷後の高次神経機能の変化について 池尻 義隆	43
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 森 泰丈	48
6. 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 種子田 護	51
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	53
IV. 研究成果の刊行物・別冊	54

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(6例11肢)では、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することを明らかにした。意識障害患者の下肢筋肉(6例10肢)に1週間の電気刺激(発症後1週~2週の間)を加えることにより、下肢総ての部位で、この期間の筋萎縮を平均1%に留めることに成功した(コントロール群では11~13%萎縮)。さらに、長期(第1週~第6週)にわたり電気刺激を加えた場合(2例4肢)も、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。

(2) 長期植物状態からの回復過程の解明

重症頭部外傷受傷1ヶ月後に植物状態を呈しているも、37例中21例(57%)が受傷から1年以内に意識を回復し、1例が受傷から2年後に意識を回復した。意識回復までに要した期間は平均 5.0 ± 5.2 ヶ月であった。11例(29.7%)が感染症で死亡したが、受傷から1年以内の死亡は2例(5.4%)のみであった。意識が回復した22例のうち、Glasgow Outcome ScaleでModerate Disability以上のレベルにまで回復したのは4例(18%)だが、うち3例が社会復帰した。しかし、他の18例は意識回復後も日常生活動作は障害されており、特に下肢の運動機能が上肢に比べて著しく障害されていた。

(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18年3月の時点で18例での測定が終了し、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(0.38 \pm 0.19 v.s. 0.88 \pm 0.28 pg/ml, M \pm SD, p <0.05)ことが判明した。他のインターロイキン濃度や興奮性アミノ酸濃度には両群で有意差を認めなかった。

(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

上記 37 症例のうち、3 年以上生存、かつ意識が回復している 16 症例について認知能力(摂食、排泄、整容)の推移を詳細に検討した結果、意識が回復した後も摂食 \gg 排泄 \geq 整容の順番で、年単位で緩徐に改善していくことが判明した。さらに、受傷から 3 年経過しても発語の認められなかった 7 例のうち 6 例が受傷から 3 年~5 年の間に発語が可能になった事実を明らかにした。

(5) 長期植物状態からの回復予知法・回復促進法の開発

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、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。前年度、健常被験者 4 例で脳ブドウ糖消費量を定量測定して正常値を得たので、本年度は頭部外傷例の脳ブドウ糖代謝を定量評価し正常値と比較した。その結果、Hybrid PET を用いて定量的局所脳ブドウ糖消費量測定が可能であり、脳ブドウ糖代謝を指標として頭部外傷後の脳機能障害を解析することが可能であることが明らかになった。

(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

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、半年毎)し、平成 18 年 3 月現在、48 例で受傷1ヶ月以内の初期評価を終了している。48 例中 41 例(85%)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。上記 48 症例のうち、26 例で施行できた追跡調査(6ヶ月~2年)の結果、11 例(42%)が完全に回復、9 例(35%)が一部回復、6 例(23%)は経過中全く改善を認めなかった。また、BADS(遂行機能障害症候群の行動評価法)の結果が、患者自身の病識欠除の程度の指標になることが判明した。

(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成功したので、本年度は培養後根神経節細胞を用いて神経突起再形成における局所タンパク質合成の制御機構を実際に観察した。

(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

外傷性脳損傷時、損傷部位では組織浸透圧が上昇する。水は浸透圧勾配により移動し、脳浮腫の発生を生じる。マウス外傷性脳損傷モデルにおいても AQP4 mRNA 発現上昇と脳水分量増加すなわち外傷性脳浮腫の発生を同時に認めた。また AQP4 の発現増加は脳浮腫消退期まで持続した。本研究により脳損傷時の外傷性脳浮腫の発生・消退に水チャンネル AQP4 が関与している可能性が明らかとなった。

分担研究者

嶋津 岳士 大阪大学大学院医学

系研究科生体機能調節医学助教授

田中 裕

大阪大学大学院医学

系研究科生体機能調節医学助教授

鋤方 安行 大阪大学大学院医学

系研究科生体機能調節医学助手

塩崎 忠彦

大阪大学大学院医学

系研究科生体機能調節医学助手
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外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った。平成 16 年度から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研究を開始し、平成 17 年度からは長期間電気刺激を加えた場合についての研究も開始した。

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対象患者は、重症頭部外傷患者 2 例 (63 歳男性、17 歳男性) と脳出血患者 4 例 (56 歳女性、57 歳男性、65

歳男性、67 歳男性) の計 6 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、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。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。トレーニング中は約 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 台のトレリートを接続して 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。

2. 長期植物状態からの回復過程の解

明:

(a)大阪大学医学部附属病院高度救命救急センターでの研究

【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37症例(平均年齢45±19、男/女=29/8)である。32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。

(b)多施設間での前向き研究

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次救命医療施設(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。下記の26施設が参加してい

る。

- ・大阪大学医学部救急医学
- ・大阪市立大学医学部附属病院救急部
- ・関西医大高度救命救急センター
- ・杏林大学医学部救急医学
- ・近畿大学医学部附属病院救命救急センター
- ・近畿大学医学部奈良病院救命救急部
- ・熊本大学医学部救急医学
- ・島根医大救急部
- ・東京医大救命救急センター
- ・獨協医科大学越谷病院救急医療科
- ・防衛医科大学救急部
- ・宮崎医科大学救急医学
- ・青梅市民病院救急部
- ・大阪警察病院救命救急科
- ・大阪市立総合医療センター救命救急センター
- ・大阪府立泉州救命救急センター
- ・大阪府立千里救命救急センター
- ・大阪府立中河内救命救急センター
- ・大阪府立病院救急診療科
- ・大阪三島救命救急センター
- ・国立大阪病院救急部
- ・社会保険中京病院救急科
- ・鳥取県立中央病院救急部
- ・阪和記念病院
- ・兵庫県立西宮病院救急医療センター
- ・松戸市立病院救急部

【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。
- ・急性期の治療方法は各施設の治療方針に任せる。
- ・他部位に重度の損傷があっても

かまわない。

- 年齢制限は設けない。
- 植物状態の定義としては、1994年に The Multi-Society Task Force on PVS が発表したクライテリア (New Engl J Med 1994; 330: 1499-1508) を用いた(下記)。

- ① no evidence of awareness of self or environmental and an inability to interact with others
- ② no evidence of sustained, reproducible, purposeful, or voluntary behavioral responses to visual, auditory, or noxious stimuli
- ③ no evidence of language comprehension or expression
- ④ intermittent wakefulness manifested by the presence of sleep-wake cycles
- ⑤ sufficiently preserved hypothalamic and brain stem autonomic functions to permit survival with medical and nursing care
- ⑥ bowel and bladder incontinence
- ⑦ variably preserved cranial-nerve reflexes (papillary, oculocephalic, corneal, vestibulo-ocular, and gag) and spinal reflexes

【方法】この多施設研究を施行するにあたり大阪大学倫理委員会の厳格な審査を受け、承認を得た。患者家族に対しては予め研究についての十分な説明を行い、同意を得た上で研究に参加していただいた。同意は家族の申し出によって随時撤回できることも説明した。

具体的には次の①②③を施行した。

- ① 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。

- ② 受傷後1ヶ月の時点で、画像(CTと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)、可能な施設では脳血流量測定(XeCT や SPECT)を施行する。
- ③ 患者基本データの記入

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:

(a)大阪大学医学部附属病院高度救命救急センターでの研究

当施設での上述 37 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1年間の DRS の推移)との関係を検討した。

(b)多施設間での前向き研究

【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・回復促進法の開発:

【対象及び方法】

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。仮想的線源計数によるChangの吸収補正法を適用した。脳ブドウ糖消費量は、Sokoloff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。

右側頭部外傷例(16才男、右側頭骨骨折、右硬膜外血腫、発症後6週)のPET検査を施行、健常者と同様の方法により脳ブドウ糖代謝画像を作製した。

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48例である。

【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。2004年12月までは、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。2005 年 1 月以降は MMSE, RBANS, FAB, TMT を実施し、さらに精神症状の推移を検討するため BADS 質問票を評価項目に加えた。評価項目は、外傷性脳損傷後のいわゆる高次脳機能障害をより効率的に検知し追跡するために変更した。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 プローブの調整

異なる吸収波長を有する蛋白質である YFP-eIF2 β と eIF5-CFP をスペーサーで連結した蛋白質 (YFP-eIF2 β /eIF5-CFP) カセットをアデノウイルスベクターに組み込んだプラスミドを作製し、293A 細胞に導入しウイルス粒子を得た。

また同時に sindbis virus ベクター (pSinRep) により YFP-eIF2 β /eIF5-CFP タンパク質を発現するプラスミドを作製した。この sindbis virus プラスミドを poly (A) の直後でワンカットし、SP6 プロモーターより RNA ポリメラーゼを用いてウイルス RNA の合成をおこなった。またヘルパー RNA も同様の手法で合成

し、2つの RNA を同時に BHK 細胞にトランスフェクトした。培養上清よりウイルス粒子を回収し実験に使用した。

2) 後根神経節細胞の培養

後根神経節細胞は生後 1 週齢のラットより取得した。培養開始 1 2 時間後、ウイルス粒子を感染させた。後根神経節細胞より伸展してきた軸索を顕微鏡観察下でマイクロピペットを用いて切断した。

FRET の観察は 100W 水銀ランプでプローブを励起させなら Leica 社製 DM IRE2 microscope で細胞の観察をおこない、画像の解析処理は MetaMorph software でおこなった。

(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

マウス脳に stab wounds を加えた。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 of 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 10 cm 頭側)、大腿二頭筋(膝蓋骨から 10 cm 頭側)、下腿前頸骨筋群(膝蓋骨から 10 cm 足底側)、下腿三頭筋(膝蓋骨から 10 cm 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気刺激を加えた場合の筋萎縮予防効果についての研究を行い、平成 18 年 3 月の時点で 6 例(10 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 $99.3 \pm 0.9\%$ 、大腿二頭筋が $99.9 \pm 1.9\%$ 、下腿前頸骨筋群が $99.9 \pm 2.5\%$ 、下腿三頭筋が $99.4 \pm 1.2\%$ と、総ての部位で 1%以下の萎縮に留めることに成功した(図1)。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。

1 週間の電気刺激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 18 年 3 月の時点で 2 例での測定が終了した。図2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3)。

2. 長期植物状態からの回復過程の解明:

(a)大阪大学医学部附属病院高度救命

救急センターでの研究

平成 18 年 3 月現在、37 症例で 1 年以上(最長 9 年 5 ヶ月)の予後追跡調査がなされており、意識回復の経過は① Group I :受傷から 3 ヶ月以内に植物状態から脱却して急激な意識レベル改善を認める症例(13 例)、② Group II :受傷 4～12 ヶ月後にかけて緩徐に意識レベルが改善して植物状態から脱却する症例(8 例)、③ Group III :植物状態がずっと遷延する症例(16 例)の 3 通りに分かれることが判明した(図4)。観察期間内に死亡した症例は 11 例(30%)で、それぞれ受傷 4 ヶ月目、10 ヶ月目、12 ヶ月目、14 ヶ月目、16 ヶ月目、22 ヶ月目、31 ヶ月目、36 ヶ月目、37 ヶ月目(2 例)、40 ヶ月目、に感染症で死亡した。しかし 1 年以内の死亡は 3 例(8%)と我々の予想よりもはるかに少なかった。37 例中 21 例(60%)が受傷から 1 年以内に意識を回復し、1 例は受傷から 2 年後に意識が回復した(図3ピンク線)。意識回復までに要した期間は平均 5.0 ± 5.2 ヶ月であった。2 年後に意識の回復した 1 例は、ストローを使ってコーヒーを飲んだり、アイスクリームを舐めることができるレベルにまで回復した。意識が回復した 22 例の中で、受傷後 1 年以内に GOS で Moderate Disability (MD)以上のレベルに改善したのは 4 例(11%)であり、大多数の患者は意識回復後も ADL(日常生活動作)が障害されていることが判明した。しかし、この 4 例中 3 例(図4水色線)が社会復帰を成し遂げることができた。これは全く我々が予想のできなかったことで、大変意外な驚くべき事実である。1 例目は 29 歳男性で、受傷後 2 ヶ月目か

ら徐々に意識が回復し、受傷から1年3ヶ月後に元の職場に computer engineer として完全復帰した。2例目は15歳男性で受傷後2ヶ月半は全くの植物状態であったが、受傷から3ヶ月目に突然意識が回復し始め、受傷から1年10ヶ月後に塗装工として働くまでに回復した。3例目は33歳男性で、受傷後2ヶ月目から徐々に意識が回復し、受傷から1年後には乗用車の運転も可能となった。

これらの事実は、『諦めないで治療を継続すれば社会復帰できる可能性がある』ということをはっきりと示しており、患者家族及び慢性期診療施設の医療従事者にとって極めて貴重な朗報となっている。

(b)多施設間での前向き研究

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4年経過した平成18年3月の時点で未だ28例しかエントリーできていない。これは①2002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、②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、③2002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。

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:

(a)大阪大学医学部附属病院高度救命救急センターでの研究

来院時意識レベルと意識回復度合いとの関係を調べると、来院時 GCS score が3点4点の最重症例と5点以上の症例とでは、受傷後1年間の DRS の推移に明らかな違いが認められ、来院時 GCS score 5点以上の症例の方が意識回復の度合いが良いことが判明した ($p < 0.05$)。しかし、受傷時年齢、急性期の頭蓋内圧、および CT 画像上の脳損傷形態と受傷後1年間の DRS の推移との間に有意差は認められなかった。

(b)多施設間での前向き研究

平成18年3月の時点で18例での測定が終了し、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 (0.38 ± 0.19 v.s. 0.88 ± 0.28 pg/ml, $M \pm SD$, $p < 0.05$) ことが判明した。他のインターロイキン濃度や興奮性アミノ酸濃度には両群で有意差を認めなかった。

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:

認知能力に関しては、意識が回復し、かつ3年以上追跡調査が可能であった16例で経時的な改善を調べた(図5)。受傷1年後の時点で経口摂取が全く不可能な患者が6例いたが徐々に改善を示し、受傷4年後には経口摂取が全く不可能な患者は皆無であった。一方、

受傷1年後の時点で排泄が全くコントロールできない患者は8例であったが、その後の1年間で改善を示した患者はおらず、8例中5例は受傷4年後の時点でも排泄が全くコントロールできなかった。また、受傷1年後の時点で整容動作が全くできない患者は9例だったが、その後の1年間で改善を示した患者はおらず、受傷後4年が経過した時点でも6例は整容動作が全くできなかった。この結果から、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4年の時点で全患者が『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4年経過した時点でも約半数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。

3年以上追跡が可能であった35例のうち、現時点で生存しているのが23例で、植物状態を呈している7例を除いた16例が意識を回復している。その16例から受傷後1年半の時点で意味のある発語が可能であった9例を除き、残りの7例が受傷後1年半の時点で全く発語が認められなかった(図6)。この7例は、受傷後3年経過しても意味のある発語は全く不可能で、家族も発語に関しては全く諦めていた。しかし、そのうちの1例(受傷時26歳、女性)が、受傷3年4ヶ月後に突然『痛い』や『私の(もの)』等の言葉を発するようになった。2例目(受傷時20歳、男性)は、受傷3年8ヶ月後頃から『アーアー』や『ウーウー』という声のトーンが急に高く大きくなってきた

など思っていると、その2ヵ月後(受傷3年10ヶ月後)に突然『お母さん』、『婦長さん』、『ありがとう』等の言葉を発するようになった。3例目(受傷時27歳、男性)は受傷4年6ヶ月後に突然『おはよう』と発し、「イチゴとみかんのどちらがほしい?」と尋ねられて『イチゴ』と答えることができるようになった。4例目(受傷時52歳、女性)は受傷4年10ヶ月後に突然『おはようございます』、等の言葉を発するようになった。5例目(受傷時18歳、男性)は、受傷から3年半が経過した時に、見舞いに来た姉が帰るときに『がんばりなよ!』と言ったのに対して、『おまえもな!』と答えたのが始まりだった。その後、簡単な書字ができるにまで急速に回復した。6例目(受傷時46歳、男性)は、受傷から3年4ヶ月が経過した時に、病院のバスで遠足に連れていってもらった帰りに、『うれしかった!』と突然話をしだした。これらの事実は、『諦めないで治療を継続すれば会話ができるようになる可能性がある』ということをはっきりと示しており、患者家族及び慢性期診療施設の医療従事者にとって極めて貴重な朗報となる。しかも、この6例は専門的な言語リハビリテーションを受けていないので、受傷後1年以上経過していても諦めずに専門的な言語リハビリテーションを施行すれば、会話が可能になる症例がさらに増えるのではないかと考えられる。

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がた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:

培養後根神経節細胞に各ウイルスベクターより産生されたウイルス粒子を感染させたところ、YFP-eIF2 β /eIF5-CFP タンパク質の蛍光がアデノウイルスベクターでは 10～15%、sindbis virus ベクターでは 8～20%の細胞で認められた。アデノウイルスベクターでは感染2日目以降より細胞がタンパク質の過剰発現による影響で細胞死を起し始め、さらに軸索を物理的に切断すると FRET を観察するまでに細胞が完全に萎縮し、解析に至らないことが判明した。sindbis virus を用いた場合でも、感染数日後より細胞死を起し大部分が死滅することが分かった。一部の生存した細胞を用いて、その軸索をマイクロピペットにより切断したが、切断後直ちに細胞が萎縮し細胞死に至るのが確認された。切断せずに突起が伸展していく過程を撮影したところ、突起の先端部の成長円錐において FRET が確認することができた。

(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

マウス脳損傷モデルでは脳損傷後 3 日目に脳水分含有量は外傷側 80.4%、反対側 78.9%と有意に増加した。有意な増加は脳損傷後 8 日まで認めた。AQP4 mRNA 発現量は脳損傷後 2 日目より上昇し 5 日目に 204%(反対側に対する%)まで上昇した。その上昇は脳損傷後 8 日目まで続いた。

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研究の結果から、『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。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。さらに今年度からは、当救命センターから転院した後も、同機器を用いて電気刺激による筋肉刺激を継続してもらい、長期的な回復に関しての追跡調査を開始した。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。

また、意識障害患者の下肢廃用性萎縮に関する研究結果には筋萎縮性側索硬化症(ALS)の患者も注目しており、2005年3月25日の朝日新聞朝刊に我々の研究結果が掲載されて依頼、個別の相談が多数寄せられている。現在継続使用している複数の患者からは、ALSに対しても電氣的筋肉刺激は有効ではないかという意見が寄せられている。

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なく、受傷1ヵ月後の時点で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。しかし、我々の長期追跡調査によって中枢神経の長期的な可塑性が明らかになり、介護の具体的な目標を示すことができるようになったので、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ようになった。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家族に、『約6割の患者が1年以内に意識を回復します』と具体的な数字を挙げて説明すると、患者家族に『目標ができたので介護に励みができます』と喜んでいただけるようになった。

また現時点では、交通事故による高度意識障害患者に対しては、症状固定(受傷後約1年)と判断されると障害程度に応じた保険金が一括で支払われる仕組みになっているが、一度に大金が支

払われるために患者家族の間でしばしば争いが生じている。しかし、我々の研究結果から年単位で回復が認められることが判明したので、「1年間に必要な金額だけを定期的に支払う仕組みにしたほうが良い」との意見が損害補償協会等で聞かれるようになった。

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つ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。

今回の研究により、重症頭部外傷後の慢性期治療(リハビリテーションを含む)に、以下に示す明確な方向性を示すことができた。

- 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、今後は意識が回復することを前提として慢性期

治療施設でも積極的に治療・看護
する必要がある。

- ② 意識障害患者では、下肢に対する
リハビリテーションを受傷早期から
積極的に開始する必要がある。
- ③ 科学的根拠に基づいて早期から計
画的にリハビリテーション(例えば
下肢筋肉に対する電気刺激)を施
行すれば、下肢の廃用性萎縮を十
分に予防できる可能性が高い。

図1

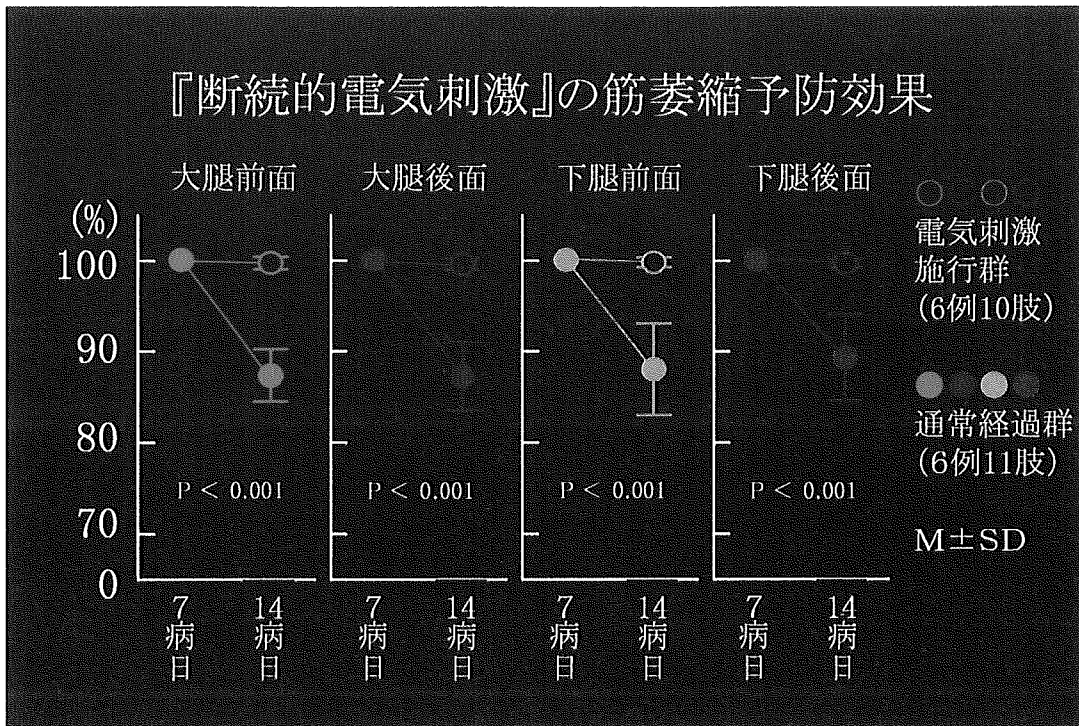


図2

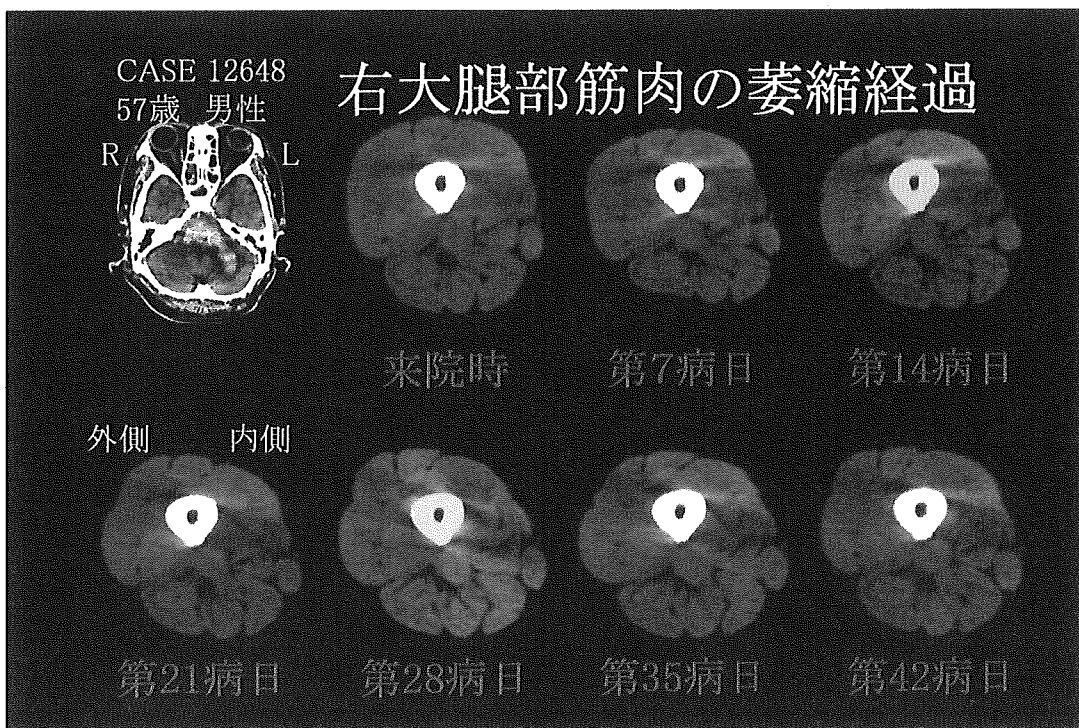


図3

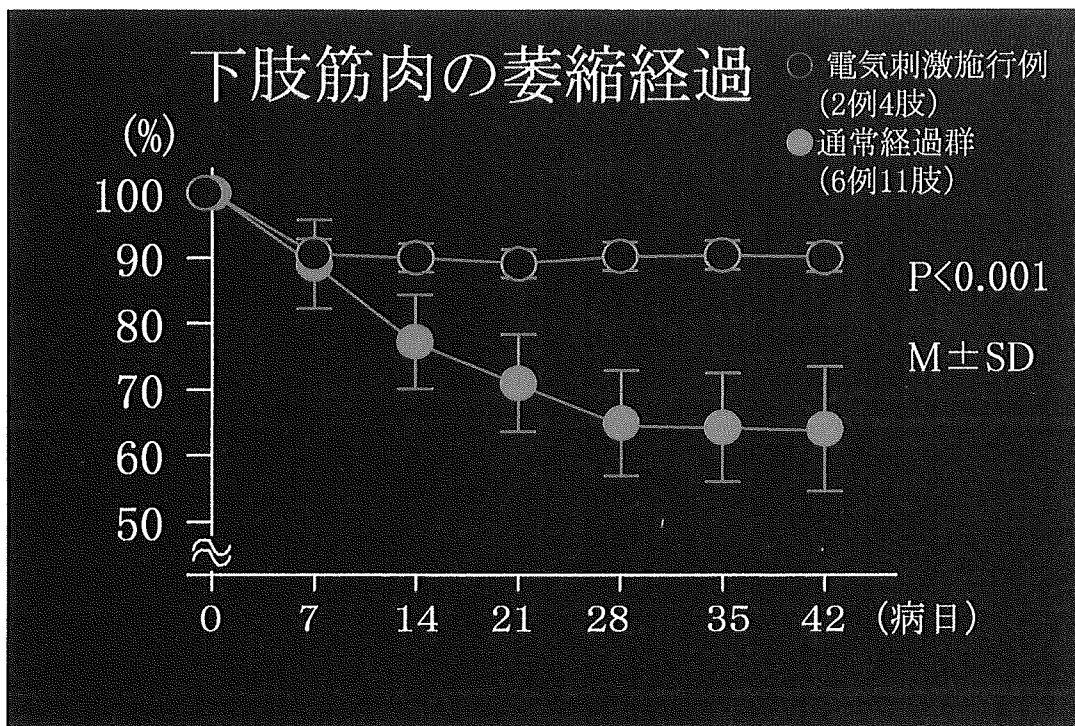


図4

