

Brain Attackから脳を守るための研究

(H9~13年度、第Ⅱ期 平成13年度 149百万円) 研究体制:厚生労働省国立循環器病センター 他8機関

<研究の概要・目標>

1 何を目指しているのか

脳血管障害（脳梗塞、脳出血等）により生じた脳神経機能障害に対する予防・診断技術、治療技術、再生治療技術の開発。

第Ⅱ期の目標

低脳温療法に代表される、臨床的に利用可能な保護療法を開発し、虚血後の神経細胞を保護する薬剤の開発に着手する。

2 何を研究しているのか

- ・脳機能と脳病態の高機能画像化
- ・脳神経細胞の生存能
- ・中枢神経の再生能
- ・脳神経細胞と脳血管の相互作用に関する研究を実施。

3 何が新しいのか

従来脳血管障害は単に血管の疾患として扱われていたが、これに脳神経分野からのアプローチを加え、総合的な予防、診断、治療技術を確立することが新しい。

<諸外国の現状>

1 現状及び我が国の水準

- ・脳神経細胞生存能の研究については基礎的研究は諸外国としのぎを削っている状況だが、臨床研究では我が国が一歩リードしている状況。
- ・中枢神経再生能の研究は、黎明期にあり、諸外国でしのぎを削っている状況。
- ・脳神経と脳血管の相互作用に関する研究は諸外国とも基礎研究レベルであり、臨床応用を目指してしのぎを削っている状況。

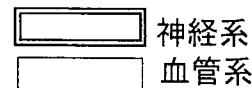
<研究進展によるメリット>

1 世界の水準との関係

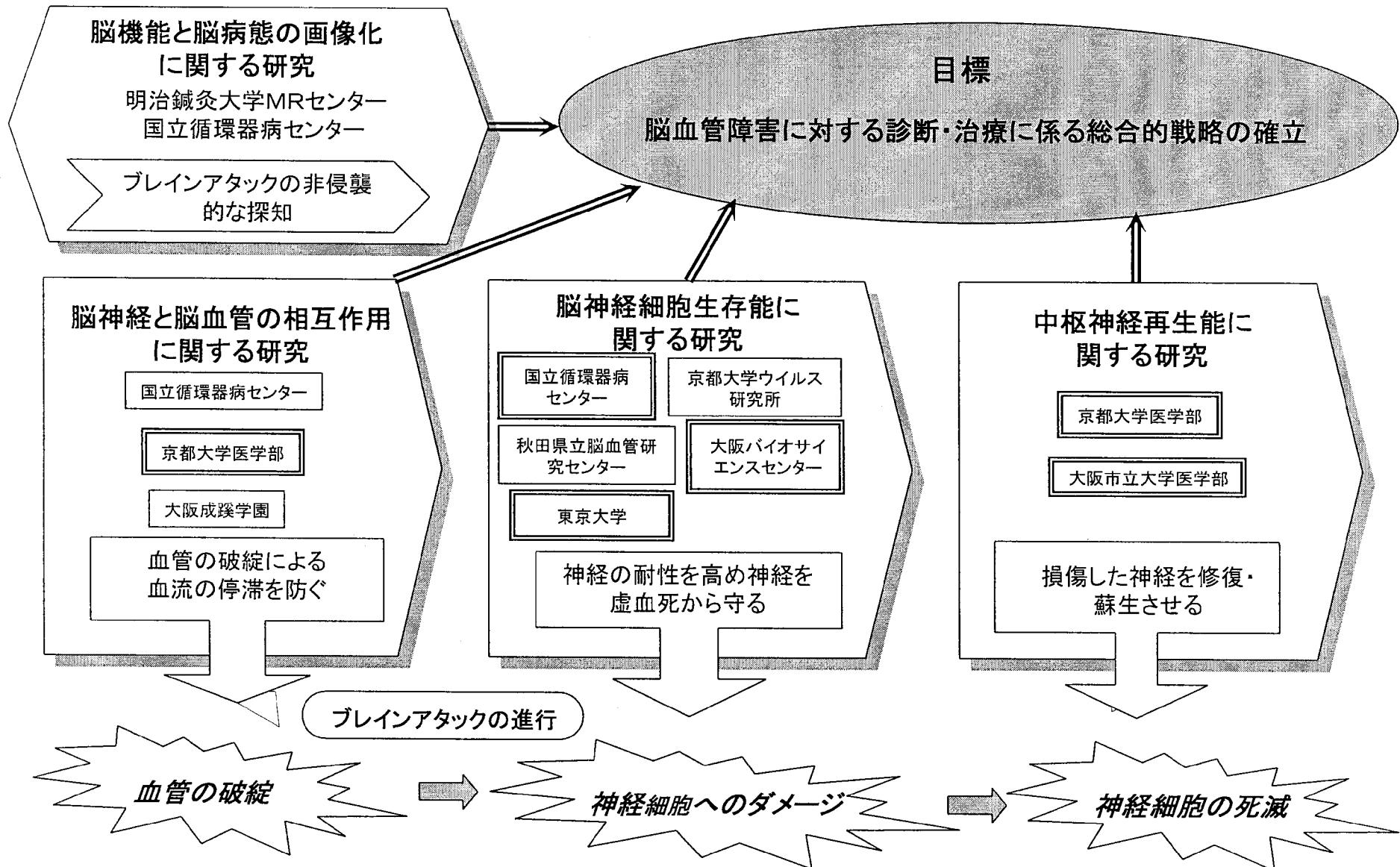
- ・急性期脳血管障害に対する臨床応用可能な画像技術において世界をリードし得る。
- ・脳神経細胞生存能の研究では、臨床応用においてアドバンテージを拡げることができる。
- ・中枢神経再生能の研究では将来の臨床応用への道を開くこととなり、諸外国をリードし得る。
- ・脳神経と脳血管の相互作用の研究では、臨床応用において諸外国をリードし得る。

2 波及効果

脳血管障害に対する診断法、治療法が確立することにより、医学・薬学分野への波及効果が期待される。



Brain Attackから脳を守るためにの研究



ブレインアタックから脳を守る研究

所用経費一覧

(単位:千円)

研究項目	研究担当機関	研究担当者	平成9年度	平成10年度	平成11年度	平成12年度	平成13年度	所用経費合計
脳の高次機能画像化に関する研究	明治歯科大学	田中 忠義	12,995	12,467	7,874	7,763	6,085	47,184
脳血管障害超急性期診断法と病態画像に関する研究	国立循環器病センター	峰松 一夫	12,639	19,384	19,572	19,463	17,056	88,114
外因による脳保護機能の評価と脳神経生存能強化機構に関する研究(その①)	国立循環器病センター研究所	柳本 広二	79,235	24,857	25,123	23,888	20,213	173,116
外因による脳保護機能の評価と脳神経生存能強化機構に関する研究(その②)	京都大学ウイルス研究所	渡井 淳司	5,853	8,021	6,279	5,032	3,519	28,704
低脂温の果たす神經保護効果の至適条件解明と臨床応用技術開発に関する研究(その①)	国立循環器病センター	成富 博章	9,576	12,143	12,107	11,641	9,573	55,040
低脂温の果たす神經保護効果の至適条件解明と臨床応用技術開発に関する研究(その②)	秋田県立脳血管研究センター	安井 信之			4,242	3,741	2,988	10,951
虚血の神経細胞における死および生存へのシグナル伝達機構の解明(その①)	国立循環器病センター研究所	名村 尚武			9,923	9,822	8,885	28,630
虚血の神経細胞における死および生存へのシグナル伝達機構の解明(その②)	東京大学分子細胞生物学研究所	後藤 由季子				3,165	2,848	6,013
神経栄養因子様分子化合物の開発と創薬への応用	岩手大学工学部	佐藤 訓美				4,512	2,696	7,208
機能的神経伝導路の再構築機構解明に関する研究	京都大学医学部	川口 三郎	11,458	7,689	7,676	7,417	5,932	40,172
神経幹細胞を用いた中枢神経機能再生に関する研究	京都大学医学部	高橋 洋			10,154	9,907	7,925	27,986
損傷神経の生存・再生促進因子の同定と遺伝子導入による治療法の開発に関する研究	大阪市立大学医学部	木山 博資				5,900	5,310	11,210
脳血管障害に於ける炎症性内因子の病態成立に果たす役割に関する研究(その①)	大阪成蹊学園	眞崎 知生		8,019	7,870	6,998	3,499	26,386
脳血管障害に於ける炎症性内因子の病態成立に果たす役割に関する研究(その②)	京都大学医学部	横本 健夫	11,929	13,420	13,650	12,669	10,125	61,793
閉塞性脳血管障害の病態解明と新たな治療技術開発に関する研究(その①)	国立循環器病センター	木田 泉		27,179	27,154	26,996	26,385	108,714
閉塞性脳血管障害の病態解明と新たな治療技術開発に関する研究(その②)	国立循環器病センター研究所	寒川 賢治	9,166	11,813	6,502			27,481
脳機能障害における脳の可塑的变化に関する研究	福井医科大学	米倉 敏晴	7,031	8,350	4,452			19,833
	国立循環器病センター	管理統括	5,428	13,615	18,000	19,280	17,194	73,515
		合計	165,308	160,757	180,578	180,194	149,213	842,050

成果の概要

課題名(研究代表者):ブレインアタックから脳を守るための研究(菊池 晴彦)

【研究成果の概要】

本研究において用いた先端科学領域の中には、神経科学領域として、神経幹細胞の分裂およびシナプス形成能の検討、傷害・断列神経突起の再生能の検討、虚血性ストレスに対する脳神経保護剤の開発、虚血性神経細胞死の細胞内機構の解明、虚血性ストレス下での神経細胞生存能増強機構の解明ならびに脳梗塞耐性モデルの確立とその生体内機構の解明、低体温の果たす脳保護の基礎的、臨床的評価、そして、脳血管領域として、脳動脈瘤形成機構、脳血管攣縮発生機構の解明、さらに脳神経画像領域として、脳神経機能画像および脳循環画像化がある。

脳循環画像領域(田中)では、わが国で初めて拡散強調画像を用い、発症直後からの超急性期脳梗塞の臨床画像診断が可能となった。脳灌流画像法では、実験的に定量的脳循環測定が可能となり、臨床的には定性的な6スライスの脳灌流画像を造影剤によるダイナミック法として撮影できるようにし、脳灌流計算画像のなかで Time to Peak (TTP) 画像が、慢性期の主幹動脈閉塞症においてもPET, SPECTのデータと良く一致し、発症急性期における脳循環の低下を優れて反映することを見いだした。

神経科学領域での神経幹細胞に関しては(高橋)、培養系において、神経幹細胞由来ニューロンの神経突起上でシナプス関連蛋白の発現が確認され、形態的には神経幹細胞由来ニューロン同士あるいはそれらと初期培養ニューロンとの間にシナプス様微小構造の形成が認められた。電気生理学的解析では、シナプス活動電位、後シナプス電流が記録された。これらの結果から、神経幹細胞から分化したニューロンはシナプス形成能を有することが明らかとなった。虚血中の脳保護に関しては(名村)、ERK を基質とし、活性化するタンパクキナーゼ MEK の選択的阻害剤 PD98059 の脳梗塞モデル虚血前投与が脳保護作用を有することが明らかとなった。さらに、新規 MEK 阻害剤 U0126 の虚血中投与も強力な脳保護効果があることが同じく脳梗塞モデルにおいて確認された。これまで、ERK はアポトーシスを抑制し、脳保護に働くと考えられていたが、MEK/ERK 経路が少なくとも虚血による神経細胞死においては、死の促進経路として働いている可能性あり、今後、MEK/ERK 経路阻害による新たな脳保護療法が開発される可能性がある。

一方、細胞内細胞死と生存の制御機構の解明に関しては(後藤)、BDNF(脳由来神経栄養因子)による生存促進が、古典的 MAP キナーゼと Akt の両方の経路を介していることを明らかにした。また、生存促進因子の一つと考えられている Akt が Bax のミトコンドリアへの移行を抑制し、また、Akt が p53 のユビキチン化・分解を促進し、これによって p53 依存的細胞死を抑制、さらに Akt がカスペース9のリン酸化を介してアポトーシスを抑制することが明らかとなった。これらのこととは、虚血性神経細胞から神経を守る上においては、細胞死のひとつのステップをターゲットにした細胞死阻害剤よりも、今後、細胞内に本来存在する生存促進シグナルを活性化するという手法が、より確実で効率的に細胞死を抑制できる可能性を示した。

新規合成化合物による脳保護の検討(佐藤)では、NEPP11 が神経突起伸展促進作用と神経細胞死抑制作用において顕著な作用を示した。この「神経栄養因子様低分子化合物」結合蛋白質の細胞内局在では、神経

細胞核内へ集積し、そのことが細胞死を抑制する可能性がある。NEPP11 により誘導される遺伝子群の解析では、Heme oxygenase-1(HO-1)の発現が誘導された。HO-1 は細胞内のヘムより神経細胞死抑制作用を有するビリベルジン、ビリベルジンを産生する。すなわち、HO-1 を誘導する低分子化合物は、神経生存能を増強することで、今後の新たな神経細胞保護剤として期待される。

損傷神経の生存・再生促進因子の同定と遺伝子導入による治療法の開発に関する研究(木山)では、神経損傷後の cDNA ライブラリーを用い、約 100 クローンにのぼる神経損傷関連遺伝子を同定した。この中には、神経栄養因子受容体やその下流に見られる細胞内情報伝達系の分子群、チオレドキシンやグルタチオン系の活性化による酸化蛋白の還元的修復など細胞死防御のためのメカニズムが作動していることが明らかになった。また、新規遺伝子として、神経損傷に特異的に応答するメタロプロテアーゼ Damage induced neuronal endopeptidase (DINE)が得られた。アデノウイルスベクターを改変して神経特異的な発現系が得る試みでは、DINE のプロモーターが高い神経特異性を有していることが明らかとなり、細胞特異的に発現する系が確立した。また、神経突起伸展能力の評価は、標的組織に逆行性トレーサーを注入し、逆行性に取り込まれ標識される神経細胞の数を計測することで可能とした。さらに、運動神経を評価系に用いる場合には、アセチルコリン小胞トランスポーターを用いることで、神経損傷後標的の骨格筋に再投射した時期を同定できることも明らかになった。

虚血下レドックス制御に関する研究(淀井)では、脳梗塞モデルの梗塞巣周囲において、チオレドキシンの発現が増加し、そのチオレドキシン高発現神経細胞の 30%で、チオレドキシンの核内移行が認められた。すなわち、チオレドキシンが単なる細胞内抗酸化物質としてのみではなく、核内に移行し、転写因子の制御を介した脳保護作用を示している可能性がある。一方、チオレドキシントランスジェニックマウスでは、脳梗塞巣が 40%に抑えられた。ラットの舌下神経切断モデルにおいてはチオレドキシン、チオレドキシンが高発現し、チオレドキシンが末梢神経傷害後の修復にも関わっている可能性を示した。リコンビナント・チオレドキシンの静脈内投与では、脳梗塞体積および神経脱落症状の軽減が認められた。すなわち、リコンビナント・チオレドキシンは脳卒中治療に有効である可能性がある。

脳の有する脳虚血に対する抵抗性(耐性能)発現に関する研究(柳本)では、正常脳において cortical spreading depression (CSD)を長期にわたり負荷することで、その後に生じた虚血後の脳梗塞体積が半減する脳梗塞耐性が誘導されることが実験モデルにおいて明らかとなった。また、脳機能評価系においても CSD 前処置を加えた群で有意に神経脱落症状発現に対する抑制があった。さらに、この脳梗塞耐性能発現の細胞内機構に関する研究では、脳由来神経栄養因子(BDNF)様因子の高発現とその後の神経細胞核内への移行が、神経生存能の増強に関連することが明らかとなった。この因子は、未知の転写因子の制御を介し、強い脳保護作用を示している可能性がある。また、CSD 後の脳内遺伝子発現変化の解析により、多数のストレス関連因子の増加あるいは減少を確認した。中でも、未だに脳内での機能が明らかではない神経一酸化窒素合成酵素(nNOS)の脳内での増加が、脳梗塞耐性能の獲得時期に一致することが明らかとなった。この因子は微量にコントロールされた一酸化窒素を産生し、それにより、虚血性負荷時および負荷後の活性酸素産生による脳傷害から脳を守る可能性がある。

以上、様々な神経保護を目指す脳卒中ブレインアタックに関する研究では、それぞれ独自性を有する新たな予防、診断・治療、再生・再建法開発への有望な戦略が示された。数年前までは、まだ広く受け入れられていないかったともいえる中枢神経系神経突起の再生再建が、決して特殊な現象ではないことが認知されつつあり、また、

神経幹細胞の存在とその脳卒中治療応用への道(可能性)が示されたことは画期的である。また、神経保護に関する研究成果においては、独自性を有する個々の一見異なる研究成果の中に一つの共通する脳神経機構の存在が明らかにされている。すなわち、細胞内分子機構の解明、神経培養系での生存能研究、実験動物による病態モデル治療実験、それぞれ脳保護機構の解明とその応用を目的とする全く異なったアプローチを用いた研究成果の中に、”神経細胞は、その生存能力を増強することが可能であり、そのことが、脳卒中、脳虚血という致死的なストレス状態から脳を守る上で、重要な戦略となり得る”という共通の認識が浮かび上がっている。神経は、元来、虚血という侵襲に対して非常に脆弱ではあるが、なんらかの環境、刺激あるいは、外的な操作によりその本来の脆弱な生存能を増強することが可能であり、すくなくとも実験的レベルでは生存能を増強し、脳卒中に打ち勝つことが可能であることが証明された。脳卒中、ブレインアタックに対する医学医療的防衛機構を発展させるためには、今後もさらなる研究支援、病気の深刻性、疾病有病者数に見合った予算の投入による国家戦略的目的達成型研究推進は必要であると考える。これら脳卒中を対象とした専門的かつ総合的医療技術開発のためのトランスレーショナルリサーチの推進は、近い将来、現在の脳卒中治療を全く違ったものとするであろう。

研究成果公表等の状況

課題名(研究代表者):ブレインアタックから脳を守るための研究(菊池 晴彦)

【研究成果発表等】

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合計
国内	89 件	144 件	466 件	699 件
国外	253(5)件	50 件	181(5)件	484(10)件
合計	342(5)件	194 件	647(5)件	1183(10)件

(注:既発表論文について記載し、投稿中の論文については括弧書きで記載のこと。)

【特許出願等】

4件(国内 4 件、国外 0 件)

【受賞等】

1件(国内 1 件、国外 0 件)

- ・日本神経内分泌学会川上賞(平成 10年 10月)

鹿児島大学医学部 宮田 篤郎