

軽度脳虚血が誘発する緩徐進行性神経細胞死と遅発性認知行動障害

藤岡 政行

Department of Neurosurgery, Lund University Hospital, 221 85 Lund, Sweden

奈良県立医科大学脳神経外科、634-8522 橿原市四条町 840

Brief and mild brain ischemia induces slowly progressive neuronal death and
late-onset cognitive decline with behavioral disorder

Masayuki Fujioka

Department of Neurosurgery, Lund University Hospital, 221 85 Lund, Sweden.

Department of Neurosurgery, Nara Medical University, 840 Shijo, Kashihara, Nara 634-8522, Japan.

Abstract

Brief ischemic/oxidative stress including global brain ischemia, hypoglycemia and focal ischemia provokes slowly evolving changes on magnetic resonance imaging (MRI) in the brains of humans and rats. These MRI changes featured T1 hyperintensity in the areas vulnerable to each ischemic stress. To clarify the significance of the MRI modification, we analyzed the changes of the rat dorsolateral striatum for 16 weeks following 15-minutes' middle cerebral artery occlusion (15-min MCAO), for MRI signals, manganese (Mn) concentration, neuronal death, astrocytes and microglia/macrophages activations, expressions of mitochondrial Mn-superoxide dismutase (Mn-SOD), glutamine synthetase (GS) and amyloid precursor protein (APP). The cognitive and behavioral studies were performed to reveal whether alteration in brain function correlated with MRI and histological changes in humans and rats.

The T1-weighted MRI signal-intensity of the striatum increased from 1 through 4 weeks after 15-min MCAO, and subsequently decreased until 16 weeks. The Mn concentration of the striatum increased in concert with upregulations of Mn-SOD and GS in astrocytes. The neuronal number in the striatum decreased significantly from 4 hours through 16 weeks, with extracellular APP accumulation and chronic inflammatory/oxidative responses. The patients and rats with striatal T1 hyperintensity had late-onset cognitive decline after a mild brain ischemia.

This study suggests that 1) a mild ischemia can trigger progressive MRI- and histological-neurodegeneration leading to cognitive dysfunction, 2) there is a pathological overlap (progressive APP accumulation, glial activation and neuronal death) between Alzheimer disease and experimental vascular dementia, 3) chronic inflammation, long-lasting oxidative stress and/or Mn neurotoxicity may play a role in neurodegeneration and cognitive decline after cerebral ischemia.

Key words; mild ischemia, neurodegeneration, MRI, T1 hyperintensity, dementia, cognitive decline

緒言

本研究では、臨床的にしばしば遭遇し、そのため最も重要と考えられる脳虚血の病態である局所脳虚血に注目した。多くの場合、内頸動脈－中大脳動脈の狭窄／閉塞により脳血流低下が生じ、その灌流領域の組織傷害が引き起こされる。中大脳動脈閉塞による局所脳虚血では、中大脳動脈の灌流領域にあたる線条体（尾状核、被殻）および大脳皮質に組織傷害が生ずる。虚血が軽度であれば汎脳組織壊死である梗塞は生じず、虚血に脆弱とされる神経細胞のみが選択的に死滅する（選択的神経細胞死）。線条体神経細胞では、特に小型－中型神経細胞が脆弱であり、大脳皮質神経細胞では、皮質第 3, 5, 6 層に存在する神経細胞が虚血に脆弱とされている。Garcia らはこの虚血性の選択的神経細胞死を incomplete infarction と呼びその病理学的意義を報告している (1)。選択的神経細胞死は肉眼的観察ではその組織構造に変化が無いように見え、顕微鏡下観察では反応性の星状膠細胞や小膠細胞の増生を伴っている。

局所脳虚血による組織傷害の範囲については、虚血が弱く虚血時間が短ければ、線条体組織のみが傷害される。虚血が強くその期間が長くなるに従い、虚血に影響される範囲が線条体から大脳皮質を含む範囲へと広がる。脳虚血後に生じる核磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging, MRI) の画像変化は、脳浮腫 (T1 低信号／T2 高信号)、脑梗塞 (T1 低信号／T2 高信号)、出血性梗塞 (形時的に一定様式の変化を示し、亜急性期に T1 高信号／T2 高信号となる) の場合は良く知られているが、軽度の虚血により生ずる選択的神経細胞死の MRI 変化の特性は知られていない。本研究では、ヒトおよびラット脳で短時間中大脳動脈閉塞後に生ずる選択的神経細胞死について MRI 解析、組織学的検討、認知行動評価を行い、考察した。

(1) ヒトの短時間局所脳虚血による MRI 画像

内頸動脈／中大脳動脈閉塞では、発症後早期の血栓溶解による血流の再開がなされなければ通常、大脳皮質を含む広範な汎脳組織壊死／脑梗塞が生じる。心腔内に形成された血栓が遊離し脳動脈への流入によって誘導される心原性脳塞栓症では、時に、塞栓の自然溶解／移動により、早期の血流再開が得られることがあり、その大脳半球虚血症状が急速に改善する現象が知られている。この現象は、その虚血症状が劇的に消失していく様子を指して、Spectacular Shrinking Deficit (SSD、2)と呼ばれている。

動物実験では (1, 3, 4)、短時間中大脳動脈閉塞－再灌流の負荷により、線条体および大脳皮質に選択的な神経細胞壊死あるいは神経細胞のアポトーシスを誘導することが可能であり、同時に、神経膠細胞および血管細胞は保全されうる。この虚血部では、組織の全体構造は温存され、長期時間経過後も組織の空胞化は生じない。このような脳虚血病変に対して、incomplete infarction という概念が提出されている (1, 5, 6)。本研究で、我々は、SSD 後の患者脳に生ずる経時的变化を神経放射線学的に検討した (7)。

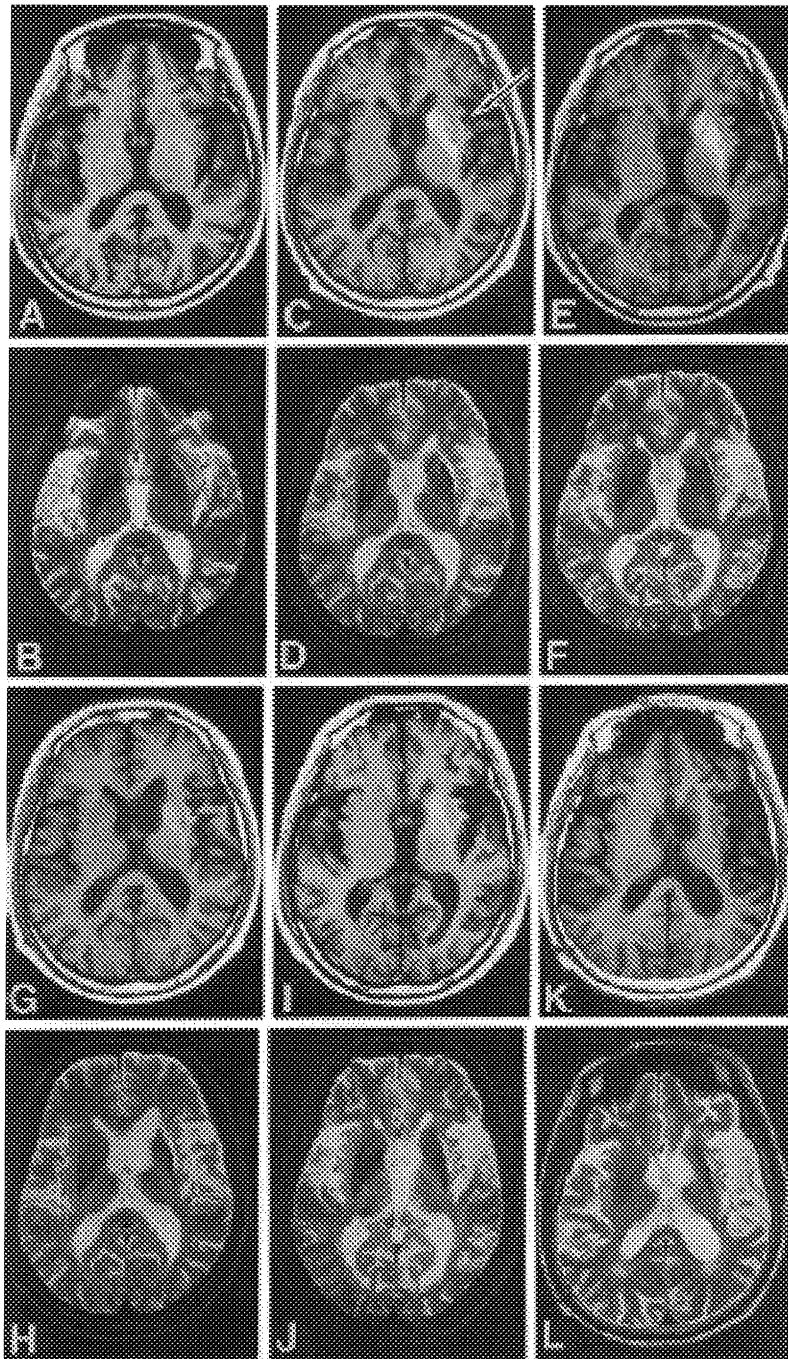


Fig 1. Temporal profile of delayed ischemic hyperintensity on T1-W MRI after brief hemispheric ischemia. Patient 1. Serial MRI reveal no marked change in the basal ganglia 3 days after brief hemispheric ischemia (A, B) but hyperintensity on T1WI (C, E, G, I) and relative hypointensity on T2WI (D, F, H, J, L) in the basal ganglia and cerebral cortex (C; arrow) from 7 days after the insult. The T1-hyperintensity subsided with time and disappeared 23 months after ischemia (K). (T1-/T2-WI, day 3:A/B; day 7:C/D; day 22:E/F; 3 months:G/H; 8 months:I/J; 23 months:K/L)

MRI解析により、CT scanでは示されない経時的特異的变化が、虚血半球側の線条体および大脳皮質に示された(図1)。経時的CT scanでは4名中3名で、異常所見は認めなかった。残りの1名については、大脳皮質に、脳浮腫／脳梗塞を示唆する小さな低吸収域が出現した。発症後第2-3日のMRIでは、3名は正常であり、1名では、前頭葉大脳皮質と外包に浮腫／梗塞を示唆する虚血性変化を認めた。その後、7日後から23ヶ月後までの期間で撮像されたMRIでは、特異的は虚血性変化が線条体と大脳皮質に認められた。第7日から第10日でのMRIで、全ての患者で線条体に、2名の患者でさらに大脳皮質に、T1強調画像高信号／T2強調画像低信号を示す変化が認められた(図1)。このT1強調画像上の高信号は、虚血後1-3週間で最もその信号強度が強くなり、その後、虚血後3週間以降は、T1強調画像上の高信号の信号強度が弱くなって行き、消失した(図1)。さらに、虚血病変部は、時間経過とともに萎縮変化を来し、近傍の脳室／くも膜下腔の拡大を伴った(図1)。

本研究で観察された特異的な虚血変化は、MRI上で遅発性の長期持続するT1高信号/T2低信号として捉えられ、CTでは等吸収であり、既存の神経画像上で定義されている虚血変化とは異なる。既知の虚血変化の場合は、

- 1) 虚血性浮腫／梗塞であれば、正常脳組織に比較してT1強調画像低信号/T2強調画像高信号となる(8)。
- 2) 出血性変化のMRI信号であれば、その信号強度はヘモグロбинの変性過程に応じたそれぞれの信号を呈するとされている。赤血球内デオキシヘモグロビン(T2強調画像の信号を低下させるが、T1への影響は少ないとされる。赤血球細胞内でデオキシヘモグロビンがメトヘモグロビンに酸化されると、そのT1のシグナルが増強され高信号となる。赤血球細胞膜が破壊されてメトヘモグロビンが細胞外に流出すると、T1強調画像、T2強調画像共に高信号を呈するようになる。さらにヘモグロбинの変性過程が進行してヘモジデリンとなりマクロファージに捕捉された状態では、T2緩和時間を短縮する。これらの経時的信号変化は出血性組織の辺縁から中心に向かって順次進行する(9)。
- 3) 異所性石灰化はT1で高信号、T2で低信号を呈するが、CT上高吸収域として描出される(10)。

これらを考慮すれば、本研究はMRIで捉えられる新しいタイプの脳虚血性変化が存在することを示している。

(2) ラットの短時間局所脳虚血によるMRI画像、進行性神経変性、遅発性認知障害

短時間の中大脳動脈－内頸動脈閉塞による一過性大脳半球虚血後、ヒト線条体を核磁気共鳴画像法で解析を行うと、T1およびT2緩和時間を短縮する特異的变化が生じることが示された(7, 11)。この軽度虚血後の遅発性MRI変化のメカニズムと意義を知るために、15分間中大脳動脈閉塞後のラット線条体変化を虚血後4時間から16週間にわたり検討した(12, 13)。検討

項目は、ラット線条体のMRI変化、組織マンガン濃度(原子吸光法)、虚血性細胞死を免れた生存神経細胞数、反応性星状膠細胞および小膠細胞の増生、Mn-superoxide dismutase (Mn-SOD), glutamine synthetase (GS), および β -amyloid precursor protein (APP)の免疫反応性である。さらに、線条体に限局して虚血性T1強調画像高信号を呈したヒト(SSD患者)とラットに対し認知行動機能評価を行い、MRI信号、線条体組織の経時的変化に応じた脳機能の変化の有無についても検討した。ヒトの認知機能は虚血後3ヶ月と12ヶ月に Hasegawa's Dementia Scale Revised (HDSR, 14) および Mini-Mental State Examination (MMSE, 15)で評価された。ラットの行動評価では、虚血後4時間から16週間で経時的に、アポモルフィン誘導性回転行動と選択反応時間課題を施行した。線条体は学習過程 (16, 17)、とくに注意機構 (16, 18)を作働させるのに重要と考えられている。選択反応時間課題は、刺激-応答学習を通じて、注意機構の障害を評価するとされている (16, 19)。

本研究の結果は、次の様に要約できる。

- 1) 一過性神経脱落症状をきたす短時間局所脳虚血後、ヒト線条体で観察された遅発性のMRI T1強調画像高信号域/T2強調画像低信号域が、ラット15分中大脳動脈閉塞モデル線条体で遅発性 (5-7日以降) に再現された。このT1高信号は、虚血後5日から4週まで増強し、その後は第16週まで減弱した (図2A)。
- 2) このT1強調画像高信号/T2強調画像低信号は、組織学的には、MRI変化より早期から選択的神経細胞死と神経膠細胞活性化を呈する (図2A, C, D)。
- 3) 虚血線条体組織マンガン濃度は、虚血後第1, 4週で有意に増加した (図3A)。
- 4) Mn-SODおよびGSの免疫染色性は、T1高信号の経時的変化に対応して、反応性アストロサイトの細胞質/細胞突起で増強した (図3B)。
- 5) 線条体神経細胞数は虚血後4時間から16週間で持続的に有意な減少を示し、組織学的に緩徐進行性神経細胞死の存在が示された (図2C)。
- 6) この神経変性に伴い、虚血後4時間から16週間で線条体に、グリア細胞の長期活性化 (博論第4章ページ55のfig7)と細胞外APP陽性顆粒の持続的増加が認められた (図2E, F)。
- 7) この特異的MRI変化を呈したヒトおよびラットは、虚血後遅発性認知行動障害を示した (図3C, D)。

Chronological changes of T1- and T2-weighted (W) magnetic resonance imaging (MRI)

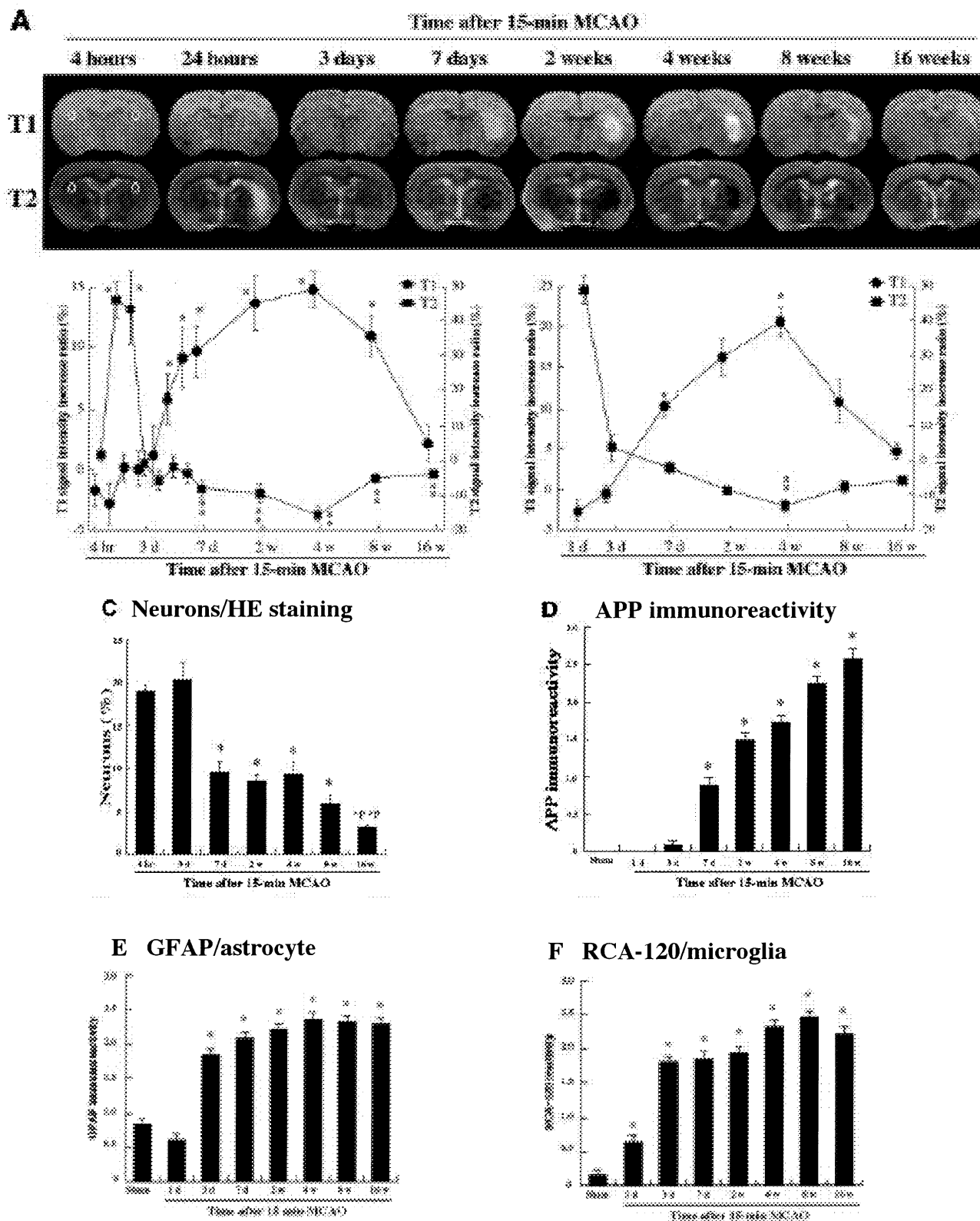


Fig. 2 Chronological changes of T1- and T2-weighted (W) magnetic resonance imaging (MRI), HE staining, APP, GFAP and RCA-120 immunoreactivity after 15-min middle cerebral artery occlusion (MCAO).

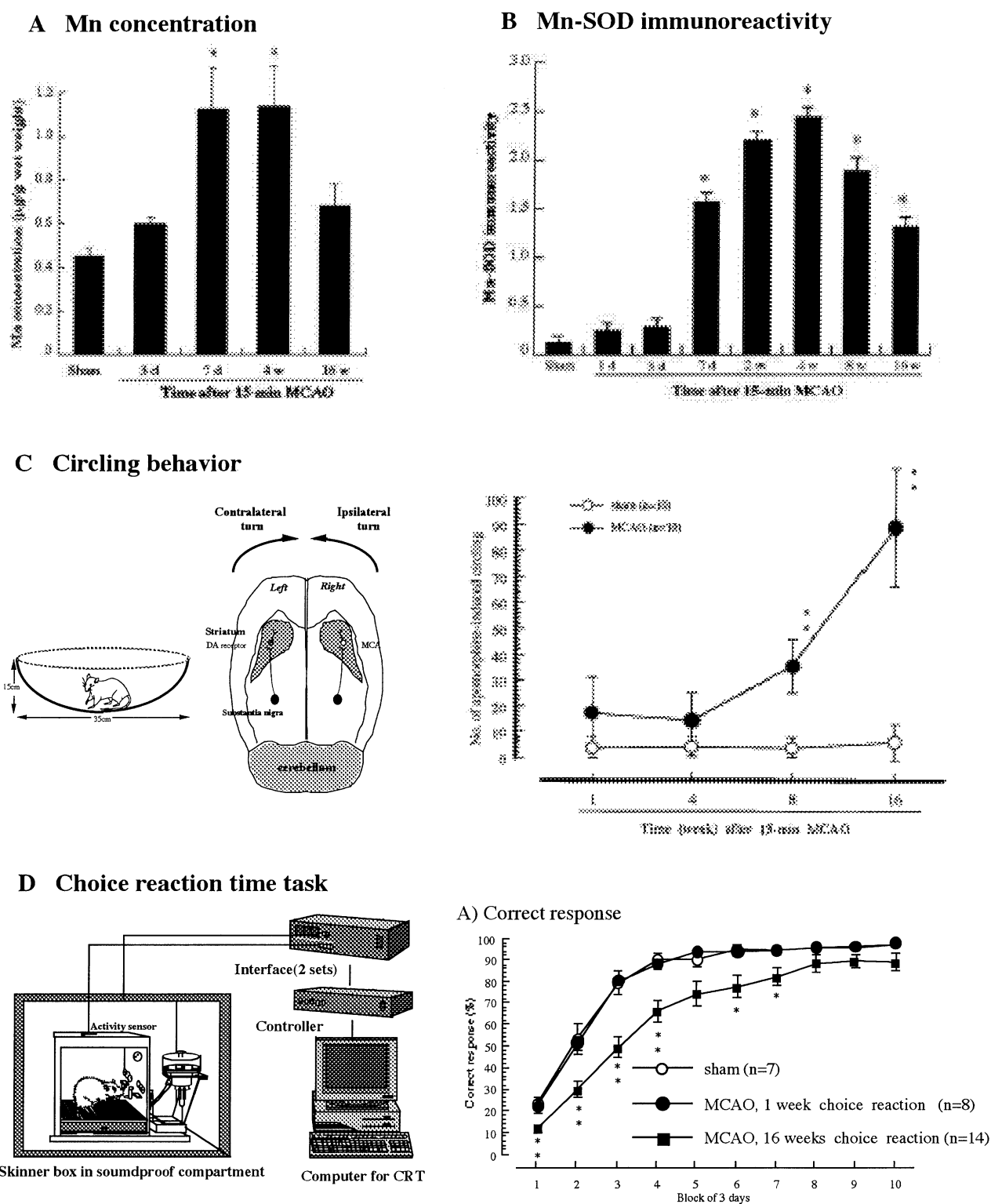


Fig. 3 Chronological changes of Mn concentration and Mn-SOD immunoreactivity after 15-min middle cerebral artery occlusion (MCAO) and delayed behavioral changes in circling behavior and CRT task.

マンガンと遅発性虚血性T1強調画像MRI高信号

本研究で見られた、緩徐進行性に出現したMRI変化 (T1高信号/T2低信号)は、短時間虚血負荷後、背外側線条体組織でのT1およびT2緩和時間がともに短縮することを意味する。これは、同組織に常磁性体が存在することを示唆するものである (20, 21)。

本研究は、15分中大脳動脈閉塞再灌流後7日および4週間で虚血側の背外側線条体の組織マンガン濃度が有意に上昇することを示した。血漿から脳実質へのマンガンの移動/輸送は、脳血液関門と脈絡叢髄液関門の両部位で生じると考えられており、そのメカニズムは、拡散促進と能動的輸送の両機序が関与するものと考えられている(22)。これについては、トランスフェリンが、血管内皮細胞および脳細胞でのマンガン輸送に役割を果たしているという報告もされている。このマンガンの組織濃度上昇の経時的変化は、反応性星状膠細胞で発現するMn-SODおよびGS免疫反応性の経時的変化、および、MRI上のT1強調画像信号高信号の経時的変化に、一致するように思われた。従って、軽度虚血後のマンガンの組織蓄積は、マンガン含有酵素の発現増加により誘導された可能性がある。

本研究で見られた虚血後線条体でのマンガンの蓄積は、神経細胞に対して保護的および障害的な相反する両方の効果をもたらさう。Mn-SODは細胞毒性を有するスーパーオキシド($O_2^{\cdot -}$)を消去する働きがある (23)。Mn-SODはtumor necrosis factor (TNF)による細胞死を防ぐことが知られている (24)。また、Mn-SODは、N-methyl-D-aspartate (NMDA)およびnitric oxide (NO)の誘導する神経細胞障害を防ぎ (25)、さらに、虚血時にミトコンドリアから流出するチトクロームCによって引き起こされるDNAの断片化/アポトーシスから神経細胞を保護する (26)。神経膠細胞 (astrocyteとoligodendrocyte)に存在するグルタミン生成酵素 (GS)は、グルタミン酸のアミノ化反応を触媒して、グルタミンを生成し、脳組織での細胞外グルタミン酸濃度とアンモニア濃度を調節している。既報告 (27, 28)は、神経膠細胞中のGSが、虚血後のグルタミン酸神経毒性から神経細胞を保護することを示唆している。それゆえ、線条体マンガン濃度の上昇が、虚血によりその発現が誘導されるMn-SODや GSの補因子としてのマンガンの働きを反映しているのであれば、このマンガン組織濃度上昇は虚血後の二次的神経変性を抑制するのに貢献していると考えられる。

しかしながら、マンガンが基底核に過剰に存在すると、マンガンは神経毒性を発揮して、ドーパミンの低下、神経細胞死/神経変性、およびアストロサイトの増生を引き起こす(20, 21)。マンガンは、遷移金属であり、酸化還元反応を誘導し細胞障害性のフリーラジカルを産生しうる(21)。マンガンが神経毒性を発揮するメカニズムは次のようなものが想定されている：

- 1) 酸化的ストレス(44)、
- 2) アストロサイト(45)およびマイクログリア(46)でのNO産生刺激、
- 3) ミトコンドリア機能の障害 (20)。

それゆえ、Mn-SODおよびGS発現誘導に伴い増加したマンガンが過剰に蓄積した場合、その結果として、マンガン神経毒性により神経細胞死/神

経変性を惹起するという可能性も考えられる。このため、虚血後の線条体でのマンガン上昇の意義は、神経細胞に対して有益とも有害とも成りうる。

遅発性T1強調画像高信号と進行性線条対神経変性

本研究では、短時間局所脳虚血後に生ずる線条体T1強調画像高信号が、慢性脳炎症を伴う神経変性過程の存在を示す画像所見であることが明かとなった。経時的な神経細胞減少に合わせて、アミロイド前駆タンパク質（APP）が線条体背外側部に進行性に蓄積することが観察されたが、これは、一過性局所脳虚血がゆっくりと進行する神経変性過程を開始させたことを示している。しかしながら、APP蓄積が神経変性の原因であるのか結果であるのかについては、明らかではない（32）。神経細胞が傷害されると、神経細胞と神経膠細胞で、APP発現の増加（蛋白質および蛋白質断片）とAPPのmRNAの増加を来す（33-35）。この増加したAPPが神経毒性効果を発揮することが示唆されている（32, 36, 37）。異常に蓄積したAPPは、細胞内カルシウムイオンの恒常生調節機能障害を誘起し、フリーラジカル産生を増加し、細胞死をもたらす（32）。異常に増加したAPPが、神経毒性を有するベータアミロイドペプチドの形成を増強する可能性、また、ベータアミロイドとの相互作用によりさらなる神経毒性を発揮する可能性が指摘されている（32, 36, 37）。本研究で得られた結果は、虚血性脳損傷にAPPが関与していることを提議した既論文を支持するものと思われる（32-34）。

本研究では、星状膠細胞、および、小膠細胞／マクロファージの活性化が虚血後慢性期にまで引き続き認められ（虚血後8-16週間）、この慢性期にはAPPの細胞外蓄積が著明であった。この活性化アストロサイトおよびマイクログリアの中には、APP免疫組織化学反応で陽性を示すものが認められ、細胞外APP沈着領域に存在した。神経膠細胞活性化とAPP蓄積に関連があるのか否かは不明である。しかしながら、最近の報告（38）で、慢性的反応性グリオシス（astrocytes, microglia）は、APP生成増加の原因となり、APPの処理過程を変化させることが、大脳皮質切片自家移植の実験で示唆されている。活性化星状膠細胞（39）および活性化小膠細胞（40）はサイトカインを産生し、このサイトカインは星状膠細胞（41）および神経細胞（42）におけるAPPの発現を増強する。また逆に、増加したAPPは、星状膠細胞（42）および小膠細胞（40, 43）の炎症性反応を誘発する。従って、本研究で観察された虚血性神経変性部でのAPPの蓄積は星状膠細胞および小膠細胞の長期的活性化により誘導されている可能性があり、また、このAPP増加がさらにグリア細胞の活性化を促進するという循環反応をもたらしているのかも知れない。

グリア細胞活性化および炎症反応の長期持続は、本研究で見られた緩徐に進行する線条体変性のmaturatrion現象に重要な役割を果しているのかもしれない。マクロファージや神経膠細胞は多量の細胞傷害性サイトカイン、ケモカイン、エイコサノイド、NO、および活性化酸

素を産生する (39-40)。産生された炎症性サイトカインおよびケモカインは、さらなるグリア細胞／炎症細胞を遊走させ、活性化し、結果として、自己再生的な病理反応の悪循環を誘導する (39-40)。

最近の研究報告では、星状膠細胞と小膠細胞が共同して大量のTNF- α を産生分泌し、結果としてアストロサイトより多量のグルタミン酸の放出を誘導し、両細胞が相乗作用をして興奮性神経毒性を発揮することが示されている (45)。短時間局所脳虚血後線条体では、それゆえ、神経膠細胞 (astrocytes and microglia)の慢性炎症反応が誘発され、これら炎症細胞が相乗効果も伴って神経細胞傷害性分子や酸化ストレスの産生を増強するのであろう。

さらに、本研究で見られたように、ミトコンドリア酵素であるMn-SODが虚血後数カ月の長期に渡ってその発現が増強している所見は、長期持続する酸化ストレスの存在 (24)と炎症反応に関わるシグナル伝達経路の長期の活性化 (25)を示唆する間接的証拠である。事実、近藤等の研究によると、30分の一過性前脳虚血後24週間経過した慢性期にも、ラット線条体には脂質過酸化反応が新たに生じているとされている (46)。

このように、軽度虚血後に生ずる遅発性MRI-T1強調画像高信号は、虚血性脳傷害により生ずる慢性炎症と酸化ストレスを伴う進行性神経変性の存在を強く示唆するマーカーと成りうると考えられる。

ヒトおよびラットの進行性認知障害

短時間局所脳虚血により生じた神経学的症状が完全に消失しても、ヒトの線条体には遅発性緩徐進行性のMRI変化としてT1強調画像高信号が生じる。この特異的虚血MRI変化を有する患者では、虚血後3ヶ月から12ヶ月の期間に、認知機能テストのHDSRおよびMMSEで評価されうる脳機能の低下が生ずる。本研究は、次のことを示唆している：

- 1) ヒトで観察された同MRI変化は、ラットで観察されたのと同様に、一過性軽度脳虚血により惹起される進行性線条体神経変性を示している。
- 2) この線条体神経変性がヒトでの遅発性認知障害の原因となった。

本研究で行われたラットの行動評価で、運動および協調運動機能には虚血群とsham群とで有意差は認められなかった(open field, rota-rodおよびplank-walking tests)。また、15分中脳動脈閉塞群は、sham手術群と比較して、water maze task (submerged platform)とeight-arm radial maze task (19)において、統計学的に有意な学習障害を引き起こさなかった。しかしながら、アポモルフィン誘導性回転行動評価では、15分局所脳虚血後8週間から16週間で、ラット背外側線条体のドーパミン作働性神経細胞が進行性に機能障害 (60)を呈することが示された。選択反応時間課題では、短時間局所脳虚血によって線条体背外側部に選択的神経細胞死を生じたラットは、記憶過程の注意関機構が遅発性に (虚血後16週間以降)障害

されることが示された。

学習、記憶システムでの情報処理は、3段階から成り立つと説明できる(61): 1) 注意機構 (覚醒、判断、決定、動機付け)、2) 短気作業記憶、3) 長期参照記憶。環境刺激／情報が与えられると、ヒトや動物は、それを短気もしくは長期記憶として保持することができる。これらの記憶を作成するためには、まずその情報に対して注意機構が働かなければならない。これらの情報処理の3過程は、それぞれ、異なった行動テストにより評価することが可能である: 選択反応時間課題は注意力機構を、eight-arm radial maze taskは作業および参照記憶を、また、water maze taskは参照記憶を評価する(32)。選択反応時間課題は、認知、記憶の第一段階を評価するものであり、注意力、即時記憶の保持能力に関連する(29, 32)。

本研究は、一過性局所脳虚血により線条体に進行性の神経変性が生じたラットでは、情報処理過程での注意能力が緩徐に障害されることが示唆された。選択反応時間課題のレバー押し行動評価において、虚血後16週間のラットはテスト開始最初の3日間でそのレバー押し回数が、sham手術群に比較して、有意に減少していた。この結果は、虚血後慢性期になって、ラットの行動に対する動機付け／モチベーションが低下していることを示している。これは、細胞外アスコルビン酸の減少による線条体機能障害がラットの行動抑制を来したという既報告に一致する (49)。

線条体は、第一義的に、運動制御において重要であると考えられている。しかしながら、次の3つの理由から、線条体は認知行動機能でも非常に重要な役割を果たしていることが強く提議されている (50)。まず第一に、解剖学研究から、線条体は大脳皮質の認知機能領域が形成する多数の神経回路の構成成分となっている。これにより、線条体はその神経回路が発揮する高次脳機能に影響を与えるものと考えられる (51, 52)。第二に、神経電気生理研究より、刺激応答学習／感覚運動学習中に、線条体神経細胞は報酬関連情報に対して固有の電気生理学的な反応を獲得し、また、神経細胞シナプスの可塑性を示す (53)。線条体のドーパミンが低下すると、その線条体神経細胞が獲得した情報に対する電気生理学的応答パターンは、減弱する (54)。最後に、ヒトや動物で線条体機能障害が生ずると、運動障害をもたらさずに、第一義的に認知行動障害が生ずる事例がある。ラットの行動を評価した既報告では、背外側線条体は刺激-応答を基礎とした行動制御に重要であり、背内側線条体と海馬システムは認知-空間情報(cognitive-spatial information)を基礎とした反応行動に大きな働きをすることが示された (17)。ヒトでは、パーキンソン病は習慣学習の障害をきたす (55)。ハンチントン病では、記憶障害が生ずる (50)。尾状核梗塞では、abulia (活動性や発語の低下、刺激応答時間の延長、作業／課題の持続能力低下)と言われる症状を呈する (56)。また、線条体機能異常は、注意力障害／多動行動異常の症状に関与していることが示された (18, 57)。これら提出された3つの証拠を考慮すれば、本研究で示されたヒトおよびラットの遅発性進行性の認知／

行動障害が線条体のMRI-T1強調画像高信号の変化とともに進行した事実が理解されるものと思われる。神経画像で示された線条体の変性に伴い、経時的に脳機能の低下が生じたものと考えられる（図）。

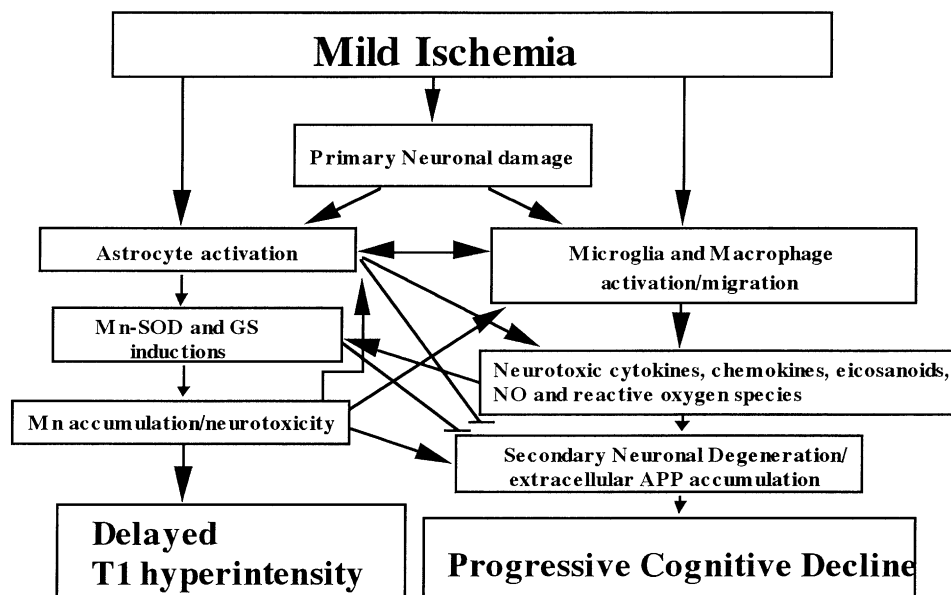


図 軽度虚血性ストレス後の遅発性緩徐進行性神経変性

謝辞

本研究に終始御指導と御鞭撻を賜った福岡大学薬学部臨床疾患薬理学教室 藤原道弘教授ならびに有益な御助言と御校閲を賜りました福岡大学薬学部薬学疾患管理学教室 片岡泰文教授、臨床薬物治療学教室 高橋三津雄教授、臨床疾患薬理学教室 岩崎克典助教授に甚大なる謝意を表します。本研究の神経画像研究を共に行いました奈良県立医科大学放射線科 田岡俊昭先生に心より感謝を申し述べます。さらに、本研究および論文作製にあたり誠に有益な御助言、御指導を賜った、塩野義製薬研究所 松尾嘉之博士、奈良県立医科大学公衆衛生学教室 御興久美子博士、岡山大学神経科学教室 近藤洋一先生、奈良県立医科大学 脳神経外科 宮寄章宏先生、ハワイ大学クイーンズ医療センター神経科学研究所 Darren Park 博士に心より感謝致します。

参考文献

1. Garcia JH, Liu K-F, Ye Z-R, Gutierrez JA. Incomplete infarction and delayed neuronal death after transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke*. 1997;28:2303–2310.
2. Minematsu K, Yamaguchi T, Omae T. "Spectacular shrinking deficit": rapid recovery from a major hemispheric syndrome by migration of an embolus. *Neurology*. 1992;42:157–162

3. DeGirolami U, Crowell RM, Marcoux FW. Selective necrosis and total necrosis in focal cerebral ischemia: neuropathologic observations on experimental middle cerebral artery occlusion in the macaque monkey. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1984;43:57–71.
4. Li Y, Chopp M, Jiang N, Zhang ZG, Zaloga C. Induction of DNA fragmentation after 10 to 120 minutes of focal cerebral ischemia in rats. *Stroke*. 1995;26:1252–1258.
5. Lassen NA. Incomplete cerebral infarction: focal incomplete ischemic tissue necrosis not leading to emolliation. *Stroke*. 1982;13:522–523.
6. Garcia JH, Lassen NA, Weiller C, Sperling B, Nakagawara J. Ischemic stroke and incomplete infarction. *Stroke*. 1996;27:761–765.
7. Fujioka M, Taoka T, Hiramatsu K, Sakaguchi S, Sakaki T. Delayed Ischemic Hyperintensity on T1-Weighted MRI in the Caudoputamen and Cerebral Cortex of Humans After Spectacular Shrinking Deficit Stroke. 1999;30:1038-1042.
8. Sartor K, Vascular disease: cerebral infarction. In: Sarot K. ed. MR imaging of the Skull and Brain: A Correlative Text-Atlas. New York. NY: Springer-Verlag: 1992:499-532
9. Sartor K, Vascular disease: hemorrhage. In: Sarot K. ed. MR imaging of the Skull and Brain: A Correlative Text-Atlas. New York. NY: Springer-Verlag: 1992:496-497
10. Henkelman RM, Watts JF, Kucharczyk W. High Signal intensity in MR images of calcified brain tissue. *Radiology*. 1991;179:199-206.
11. Fujioka M, Okuchi K, Nagata K: Incomplete ischemic injury in the caudoputamen and cerebral cortex in humans due to transient middle cerebral artery occlusion caused by cardiogenic embolism. *Stroke* 1998 ; 29:306.
12. Fujioka M, Taoka T, Matsuo Y, Hiramatsu K, Sakaki T. Novel brain ischemic change on MRI: Delayed Ischemic Hyperintensity on T1-Weighted Images and Selective Neuronal Death in the Caudoputamen of Rats After Brief Focal Ischemia *Stroke*. 1999;30:1043-1046
13. Fujioka M, Taoka T, Matsuo Y, Mishima K, Ogoshi K, Kondo Y, Tsuda M, Fujiwara M, Asano T, Sakaki T, Miyasaki A, Park D, Siesjo BK. Magnetic resonance imaging shows delayed ischemic striatal neurodegeneration. *Ann Neurol* 2003; 54: 732-747
- 14 Kato S, Shimogaki H, Onodera A, et al. Development of the revised version of Hasegawa's dementia scale [in Japanese]. *Jpn J Geriatr Psychiatry* 1991; 2: 1339-1347.
- 15 Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12: 189-198.
- 16 Baunez C, Robbins TW. Effects of dopamine depletion of the dorsal striatum and further interaction with subthalamic nucleus lesions in an attentional task in the rat. *Neuroscience* 1999; 92: 1343-1356.

- 17 Devan BD, White NM. Parallel information processing in the dorsal striatum: relation to hippocampal function. *J Neurosci* 1999; 19: 2789-2798.
- 18 Teicher MH, Anderson CM, Polcari A, et al. Functional deficits in basal ganglia of children with attention-deficit/hyperactivity disorder shown with functional magnetic resonance imaging relaxometry. *Nat Med* 2000; 6: 470-473.
- 19 Ikeda T, Mishima K, Yoshikawa T, et al. Selective and long-term learning impairment following neonatal hypoxic-ischemic brain insult in rats. *Behav Brain Res* 2001; 118: 17-25.
- 20 Malecki EA. Manganese toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and DNA fragmentation in rat primary striatal neurons. *Brain Res Bull* 2001; 55: 225-228.
- 21 Pal PK, Samii A, Calne DB. Manganese neurotoxicity: a review of clinical features, imaging and pathology. *Neurotoxicology* 1999; 20:227-238.
- 22 Aschner M, Vrana KE, Zheng W. Manganese uptake and distribution in the central nervous system (CNS). *Neurotoxicology* 1999; 20: 173-180.
- 23 Hassan HM. Biosynthesis and regulation of superoxide dismutases. *Free Radic Biol Med* 1988; 5: 377-385.
- 24 Wong GH, Elwell JH, Oberley LW, Goeddel DV. Manganous superoxide dismutase is essential for cellular resistance to cytotoxicity of tumor necrosis factor. *Cell* 1989; 58: 923-931.
- 25 Gonzalez-Zulueta M, Ensz LM, Mukhina G, et al. Manganese superoxide dismutase protects nNOS neurons from NMDA and nitric oxide-mediated neurotoxicity. *J Neurosci* 1998; 18: 2040-2055.
- 26 Fujimura M, Morita-Fujimura Y, Kawase M, et al. Manganese superoxide dismutase mediates the early release of mitochondrial cytochrome C and subsequent DNA fragmentation after permanent focal cerebral ischemia in mice. *J Neurosci* 1999; 19: 3414-3422.
- 27 Petito CK, Chung MC, Verkhovsky LM, Cooper AJ. Brain glutamine synthetase increases following cerebral ischemia in the rat. *Brain Res* 1992; 569: 275-280.
- 28 Gorovits R, Avidan N, Avisar N, et al. Glutamine synthetase protects against neuronal degeneration in injured retinal tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 7024-7029.
- 29 Migheli R, Godani C, Sciola L, et al. Enhancing effect of manganese on L-DOPA-induced apoptosis in PC12 cells: role of oxidative stress. *J Neurochem* 1999; 73: 1155-1163.
- 30 Spranger M, Schwab S, Desiderato S, et al. Manganese augments nitric oxide synthesis in murine astrocytes: a new pathogenetic mechanism in manganism? *Exp Neurol* 1998; 149: 277-283.
- 31 Chang JY, Liu LZ. Manganese potentiates nitric oxide production by microglia. *Mol Brain Res* 1999; 68: 22-28.
- 32 Yankner BA. Mechanisms of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neuron* 1996; 16: 921-

932.

- 33 Saido TC, Yokota M, Maruyama K, et al. Spatial resolution of the primary beta-amyloidogenic process induced in postischemic hippocampus. *J Biol Chem* 1994; 269: 15253-15257.
- 34 Shi J, Yang SH, Stubbley L, et al. Hypoperfusion induces overexpression of beta-amyloid precursor protein mRNA in a focal ischemic rodent model. *Brain Res* 2000; 853: 1-4.
- 35 Siman R, Card JP, Nelson RB, Davis LG. Expression of beta-amyloid precursor protein in reactive astrocytes following neuronal damage. *Neuron* 1989; 3: 275-285.
- 36 Lorenzo A, Yuan M, Zhang Z, et al. Amyloid beta interacts with the amyloid precursor protein: a potential toxic mechanism in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* 2000; 3: 460-464.
- 37 Yoshikawa K, Aizawa T, Hayashi Y. Degeneration in vitro of post-mitotic neurons overexpressing the Alzheimer amyloid protein precursor. *Nature* 1992; 359: 64-67.
- 38 Martins RN, Taddei K, Kendall C, et al. Altered expression of apolipoprotein E, amyloid precursor protein and presenilin-1 is associated with chronic reactive gliosis in rat cortical tissue. *Neuroscience* 2001; 106:557-569.
- 39 Van Wagoner NJ, Benveniste EN. Interleukin-6 expression and regulation in astrocytes. *J Neuroimmunol* 1999; 100: 124-139.
- 40 Benveniste EN, Nguyen VT, O'Keefe GM. Immunological aspects of microglia: relevance to Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 2001; 39:381-391.
- 41 Rogers JT, Leiter LM, McPhee J, et al. Translation of the alzheimer amyloid precursor protein mRNA is up-regulated by interleukin-1 through 5-untranslated region sequences. *J Biol Chem* 1999; 274: 6421-6431.
- 42 Del Bo R, Angeretti N, Lucca E, et al. Reciprocal control of inflammatory cytokines, IL-1 and IL-6, and beta-amyloid production in cultures. *Neurosci Lett* 1995; 188: 70-74.
- 43 Barger SW, Harmon AD. Microglial activation by Alzheimer amyloid precursor protein and modulation by apolipoprotein E. *Nature* 1997; 388: 878-881.
- 44 Allan SM, Rothwell NJ. Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 734-744.
- 45 Bezzi P, Domercq M, Brambilla L, et al. CXCR4-activated astrocyte glutamate release via TNFalpha: amplification by microglia triggers neurotoxicity. *Nat Neurosci* 2001; 4: 702-710.
- 46 Kondo Y, Asanuma M, Nishibayashi S, et al. Late-onset lipid peroxidation and neuronal cell death following transient forebrain ischemia in rat brain. *Brain Res* 1997; 772: 37-44.
- 47 Kafetzopoulos E, Vlahas V, Konitsiotis S. Different patterns of rotational behavior in rats after dorsal or ventral striatal lesions with ibotenic acid. *Pharmacol Biochem Behav* 1988; 29: 403-406.
- 48 Atkinson RC, Shiffrin RM. The control of short-term memory. *Sci Am* 1971; 225: 82-90.

- 49 Rebec GV, Wang Z. Behavioral activation in rats requires endogenous ascorbate release in striatum. *J Neurosci* 2001; 21: 668-675.
- 50 Calabresi P, De Murtas M, Bernardi G. The neostriatum beyond the motor function: experimental and clinical evidence. *Neuroscience* 1997; 78: 39-60.
- 51 Middleton FA, Strick PL. Anatomical evidence for cerebellar and basal ganglia involvement in higher cognitive function. *Science* 1994; 266: 458-461.
- 52 Alexander GE, DeLong MR, Strick PL. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 1986; 9: 357-381.
- 53 Graybiel AM, Aosaki T, Flaherty AW, Kimura M. The basal ganglia and adaptive motor control. *Science* 1994; 265: 1826-1831.
- 54 Aosaki T, Graybiel AM, Kimura M. Effect of the nigrostriatal dopamine system on acquired neural responses in the striatum of behaving monkeys. *Science* 1994; 265: 412-415.
- 55 Knowlton BJ, Mangels JA, Squire LR. A neostriatal habit learning system in humans. *Science* 1996; 273: 1399-1402.
- 56 Caplan LR, Schmahmann JD, Kase CS, et al. Caudate infarcts. *Arch Neurol* 1990; 47: 133-143.
- 57 Lou HC, Henriksen L, Bruhn P. Focal cerebral dysfunction in developmental learning disabilities. *Lancet* 1990; 335: 8-11.