

脳虚血耐性現象－臨床的意義－

Ischemic tolerance in the brain -How can it be translated to stroke patients?-

大阪大学大学院医学系研究科神経内科学（脳卒中センター）／准教授

北川 一夫^{*}

はじめに

tPA時代を迎えた脳卒中診療は、まさにBrain Attack時代の到来であり急性期治療の重要性が叫ばれている。しかしtPA治療の対象となる脳梗塞患者は全体の10%以下であり、一旦発症した脳梗塞に対する脳保護戦略の重要性はますます高まるものと考えられる。これまでグルタミン酸受容体拮抗薬、カルシウムチャンネル拮抗薬をはじめ多くの薬剤が脳梗塞急性期の保護薬として臨床治験に供されてきたが、いまだ確実な脳保護効果を示す薬剤は開発されていない。基礎実験で確実な虚

血脳に対する保護効果、あるいは類似した現象を示すものとして 冬眠、虚血耐性、低体温 の3つの現象が挙げられる（図1）。冬眠はリスで内因性に誘導される現象で、正常脳の5%以下の脳低灌流、10度以下の低体温状況下で脳組織が生存する現象である。また低体温は人為的に体温を3-5度低下させたときにみられる虚血に対する保護効果である。虚血耐性現象はあらかじめ軽度の虚血負荷を加えた際に脳に誘導される内因性の耐性現象であり、動物脳虚血モデルでは低体温と並んで確実な脳保護効果が得られる^{1,2)}。

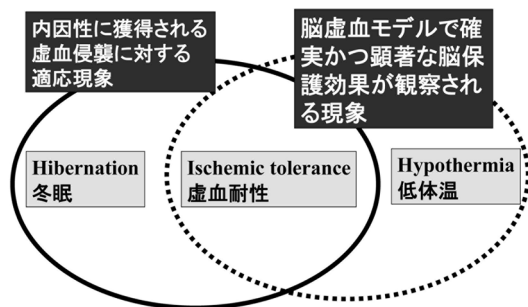


図1 虚血耐性、冬眠、低体温の関係
内在性に獲得される虚血侵襲に対する適応現象として劇的な効果を示すものは冬眠脳である。また脳虚血実験モデルで確実かつ顕著な脳保護効果が示される代表的なものとして低体温がある。虚血耐性は、内在性に誘導されかつ虚血モデルで確実な保護効果が示される現象であり、虚血耐性の分子メカニズムには冬眠脳や低体温のメカニズムと“Metabolic downregulation”という点で共通している可能性が高い。

臨床例での虚血耐性現象

動物脳虚血モデルでは確実な脳保護現象を示す虚血耐性現象であるが、臨床的には一過性脳虚血発作（TIA）を伴った脳梗塞症例での検討が海外の研究者を中心に行われている。その中でも代表的なWegenerらの報告では、TIAを伴った脳梗塞症例ではTIAを伴っていない例に比べて、脳梗塞発症時の残存血流は低下しているものの脳梗塞容積は1/4に減少したことを報告している（図2）³⁾。またCastilloらはTIAによる脳梗塞サイズ縮小効果はアテローム血栓性脳梗塞、心原性脳塞栓症で観察されることを報告している⁴⁾。心臓領域でも梗塞前狭心症は心筋梗塞を発生した場合に梗塞縮小効果を示すことが示されており、虚血耐性または虚血プレコンディショニングという現象は、臓器の普遍的な虚血に対する適応現象であり注意深く検討すればヒト臨床例でも観察されると考えられる。

^{*} Kitagawa Kazuo: Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine, Associate Professor

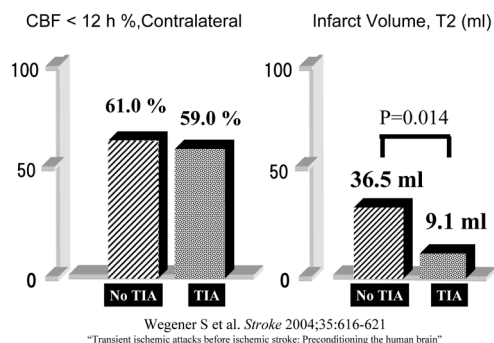


図 2 臨床脳梗塞例での虚血耐性現象³⁾
発症 12 時間以内に MRI を撮像した 65 例のラクナ梗塞を除く虚血性脳卒中例で、一過性脳虚血発作 (TIA) を前駆した 16 例と前駆しない 49 例の間で、患側半球の残存血流量 (対健側比) および 3-7 日後の T2 強調画像での脳梗塞サイズを示す。残存血流量は両群間で差がないが、脳梗塞サイズは TIA を前駆した例の方が小さく、TIA が虚血耐性を誘導したものと考えられる。

虚血耐性現象の分子メカニズム

-Metabolic downregulation の関与-

虚血耐性現象の分子メカニズムの検討は当初ストレス蛋白質 (HSP) を中心に行われた。その背景には、非神経系細胞では熱耐性現象と HSP の密接な関連があること、虚血侵襲後に生存し続ける神経細胞では HSP 産生が誘導されることが挙げられる⁵⁾。しかしその後虚血ストレス時の脳神経細胞での遺伝子発現の解析が進み、HSP 以外の様々な遺伝子が発現されることが明らかになった。それらを簡略に転写因子の観点から整理すると図 3 のようになる⁶⁾。まず虚血は複雑なストレスであり脳では、低酸素ストレス、酸化ストレス、グルタミン酸ストレスの 3 種類のストレスが混合したものと考えられる。各々のストレスからおもに活性化される転写因子、さらにその下流に存在する遺伝子産物を示している。我々はこの中でも神経細胞に豊富に存在し各種の刺激で活性化されシナプス可塑性、細胞生存、軸索伸長に関与する転写因子 CREB に注目して検討を進めている。しかし 2003 年 Simon らのグループがマウス中大脳動脈閉塞モデルの虚血耐性獲得下における遺伝子発現の検討をおこなったところ興味深い知見が得られた (図 4)⁷⁾。虚血負荷が単回であれば軽度でも重度でも発現が増加する遺伝子が多いのに対して、

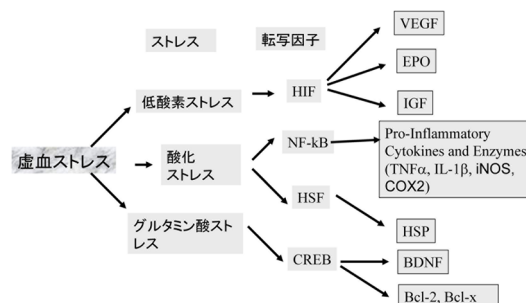


図 3 虚血ストレスと遺伝子発現の関係⁶⁾
虚血ストレスは大きく低酸素ストレス、酸化ストレス、興奮性アミノ酸ストレスに大別されると考えられる。各ストレスに対して主として活性化される転写因子、その転写因子によって発現が亢進する遺伝子を矢印で示した。HIF: Hypoxia-inducible factor, NF-κB: Nuclear factor kappa B, HSF: Heat shock factor, CREB: cyclic AMP-responsive element binding protein, VEGF: Vascular endothelial growth factor, EPO: Erythropoietin, IGF: Insulin-like growth factor, TNFα: tumor necrotizing factor α, IL-1β: Interleukin 1β, HSP: Heat shock protein, BDNF: Brain-derived neurotrophic factor

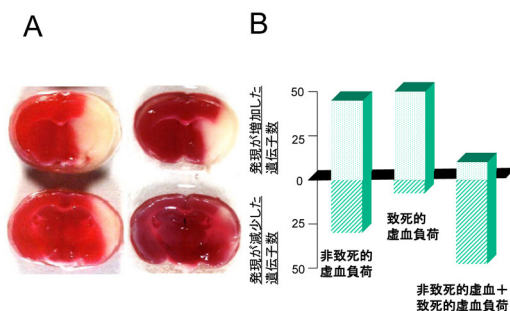


図 4 虚血耐性獲得下で DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現の解析⁷⁾

(A) マウス中大脳動脈閉塞モデルで観察される虚血耐性現象。左パネルは偽手術後、中大脳動脈閉塞、右パネルは短時間中大脳動脈閉塞再灌流 3 日後に再度中大脳動脈閉塞したマウス脳の TTC 染色を示す。(B) マウス中大脳動脈閉塞・再灌流モデルで 15 分虚血 (非致死性虚血負荷)、60 分虚血 (致死性虚血負荷)、15 分虚血負荷を加えた 3 日後に 60 分虚血 (非致死性虚血 + 致死性虚血負荷) を加えた 24 時間後に脳組織の遺伝子発現を DNA マイクロアレイで検討し、発現が増加した遺伝子数、発現が減少した遺伝子数を示した Stenzel-Poore らの結果を示す。単回の虚血負荷では、非致死性、致死性を問わず発現増加を示す遺伝子数が多かったのに対して、虚血耐性獲得下に本来致死性虚血侵襲を加えると発現が減少する遺伝子数が増加している。

軽度の虚血負荷で耐性を獲得したあとに重度の虚血負荷が加わると脳組織は正常状態より発現を低下させる遺伝子の方が圧倒的に多いことが明らかとなった。そのなかにはエネルギー代謝、蛋白質代謝、イオンチャンネル関連の遺伝子が多く含まれていた。すなわち虚血耐性を獲得した脳では冬眠脳に類似した効率的なMetabolic downregulationを誘導し次に加わる虚血侵襲から脳を守っているとも解釈される。これまで虚血耐性状態で発現が上昇する遺伝子が注目され検討されてきたが、むしろ発現が低下しエネルギー代謝の抑制に関わる遺伝子が薬剤開発のヒントになる可能性が高いのではないかと筆者は考える。

脳側副血行路発達を介した防御機構

脳虚血に対して内在性に誘導される保護機構として、脳卒中を専門とする臨床医が日常診療で頻繁に遭遇しているのが脳側副血行路の発達である。主幹動脈が突然閉塞する心原性脳塞栓症では

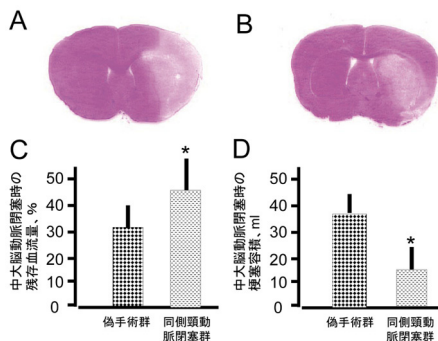


図5 慢性低灌流下における側副血行路の発達による虚血耐性現象⁸⁾

マウスの中大脳動脈永久閉塞モデルでは、大脳皮質、線条体及び広範な脳梗塞が作成される (A) のに対して、あらかじめ2週間前に片側総頸動脈を結紮することにより一側脳半球を慢性低灌流状態に曝しておくで中大脳動脈永久閉塞後の脳梗塞サイズは著しく縮小する (B)。中大脳動脈を永久閉塞する際の脳皮質血流変化をレーザードブラ血流計で観察すると、偽頸動脈手術群では前値の約30%に低下するのに対し、2週間前に同側頸動脈を閉塞した群では約47%までにしか低下せず、脳軟膜動脈吻合を介した側副血行路が機能しているものと考えられる。(D)には、偽頸動脈手術群と同側頸動脈閉塞群の中大脳動脈閉塞後の脳梗塞容積を示す。あらかじめ2週間前に同側頸動脈を閉塞した群では、脳梗塞体積が有意に縮小している。

一般に脳軟膜動脈を介した側副血行路の発達が悪く血管灌流領域全域に及ぶ脳梗塞が生ずるのに対して、アテローム硬化による狭窄を経て閉塞する場合は側副血行路が発達し灌流領域周辺部では梗塞を免れる場合が多い。血管の閉塞に至るスピードが側副血行路発達のもっとも重要な規定因子と考えられる。筆者等は実験モデルでこの現象を再現するため、マウス中大脳動脈を閉塞する2週間前に予め同側総頸動脈を閉塞し慢性低灌流状態を負荷した。その結果、中大脳動脈閉塞前後の残存血流率が32%から48%に増加し、梗塞体積も顕著に縮小した (図5)⁸⁾。同様な慢性低灌流による脳梗塞縮小効果はラットでも観察しており、脳軟膜動脈吻合血管の径が太くなることを確認している。既存側副血行路の発達(Arteriogenesis)の検討はこれまで見過ごされてきたが実は脳梗塞重症度を規定する重要な一因であり、かつ内在性に適応される現象なので今後の分子レベルでの研究の発展が待たれる。

おわりに

脳において虚血侵襲に対して内在性に誘導される防御的機構を図6にまとめた。虚血侵襲、ストレスに対して脳血管レベルでは側副血行路発達、Arteriogenesis、が、脳実質、細胞レベルでは

虚血侵襲に対して内在性に誘導される保護機構

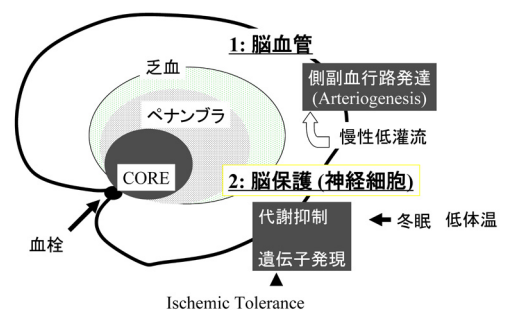


図6 虚血侵襲に対して内在性に誘導される保護機構
虚血ストレスに対して脳組織は大きく二つの側面、脳血管と脳実質細胞、で防御機構を発動していると考えられる。脳血管面では慢性低灌流状態によって誘導される側副血行路発達(Arteriogenesis)が代表的なものであり、脳実質細胞とくに脳神経細胞ではIschemic toleranceに見られる遺伝子発現および冬眠、低体温と共通したメカニズムとしてmetabolic downregulation (代謝抑制) が挙げられる。

Metabolic downregulation, 脳保護的な遺伝子発現が挙げられる。脳虚血耐性現象は臨床でも観察される現象なので、このような内在性に誘導される防御的機構の本質を抽出し脳保護戦略に応用されることが期待される。

引用文献

- 1) Kitagawa K, et al., (1990) Ischemic tolerance phenomenon found in the brain. *Brain Res* 528: 21-24.
- 2) Kirino T. Ischemic tolerance. *J Cereb Blood Flow Metab* (2002) 22:1283-1296.
- 3) Wegener S et al., Transient ischemic attacks before ischemic stroke: Preconditioning the human brain? A multicenter magnetic resonance imaging study. *Stroke* 35: 616-621, 2004
- 4) Castillo J et al., The release of tumor necrosis factor is associated with ischemic tolerance in

human stroke. *Ann Neurol* 54: 811-819, 2003

- 5) 北川一夫。虚血耐性の分子生物学。脳と循環 10: 239-244, 2005
- 6) Kitagawa K. CREB and CRE-mediated gene expression in the ischemic brain. *FEBS Journal*, in press
- 7) Stenzel-Poore MP et al., Effect of ischaemic preconditioning on genomic response to cerebral ischaemia: similarity to neuroprotective strategies in hibernation and hypoxia-tolerant states. *Lancet* (2003) 362: 1028-1037, 2003
- 8) Kitagawa K, et al., (2005) Chronic mild reduction of cerebral perfusion pressure induces ischemic tolerance in focal cerebral ischemia. *Stroke*, 36: 2270-2274.

この論文は、平成19年7月28日(土)第21回老年期痴呆研究会(中央)で発表された内容です。