

脳虚血の基礎病態 臨床的視点から

田中耕太郎 野川 茂 永田栄一郎
鈴木 重明 傳法 倫久 小堺 有史

要旨：脳組織の正常機能は、脳血流による酸素とブドウ糖の絶え間ない供給に全面的に依存している。脳血流量低下とその持続時間によって、虚血性脱分極、興奮性細胞傷害、酸化傷害、二次的微小循環障害、炎症反応、アポトーシスなどの各種脳組織傷害機序が、虚血中心部から周辺に向かって連鎖的に生じてくる。小動物と異なりヒト大脳では白質が全脳容積の50%も占め、灰白質と白質では上記の各種組織傷害機序の軽重もかなり異なっている。灰白質ではCa²⁺やグルタミン酸が強く関与するが、白質ではこれらの関与は弱く、むしろフリーラジカルを介する酸化傷害が強く作用する。以上より、今後臨床的には抗血栓療法に加え、各患者の梗塞病変の分布によって、それぞれ異なる脳組織保護療法を開発し応用してゆく必要がある。(J Jpn Coll Angiol, 2004, 44: 217-223)

Key words: cerebral ischemia, excitotoxicity, free radicals, white matter injury, leukoprotection

はじめに

脳組織は各種実質内細胞系と微小循環系の2大要素よりなる。微小循環系では、血管内皮傷害を主体とする二次的微小循環障害につき解明が進み、脳梗塞急性期の抗血栓療法へと臨床応用が結実している。一方、実質内細胞系の虚血病態については、近年の分子生物学ないし遺伝工学的手法の開発とともに、細胞レベル、さらには細胞内小器官、そして分子レベルへと急速に研究対象がシフトし多くの研究成果が蓄積しつつある。さらに*in vitro*虚血実験モデルの確立、アポトーシスなど神経細胞死の病態生理や神経組織再生に基礎研究者も大きな関心を寄せるようになって、neuroscienceの分野でも脳虚血病態は重要な研究課題の一つとなっている。しかし、これら基礎研究成果をもとに、梗塞領域を30~50%以上も縮小し期待をもって臨床試験に付された多くの脳保護薬がことごとく、動物実験の結果を再現できず臨床応用が断念されたことは周知の事実である。その理由の一つに、ヒトと異なり、脳の85~90%が灰白質よりなる小動物の脳梗塞モデルでは、白質傷害が主体であることが多いヒト脳梗塞の病態を正確に把握することは不可能に近いことが

挙げられる¹⁾。従来あまり注目されていなかった白質も、虚血に対しかなり脆弱であることが明らかとなってきた²⁾。灰白質とはかなり異なる白質の虚血性傷害機序を正確に把握することは、ヒト脳梗塞の治療戦略を組み立てていくうえで大変重要なポイントである。

脳虚血時の組織反応

脳組織の正常機能は、脳血流による酸素とブドウ糖の絶え間ない供給に全面的に依存している³⁾。そのため、Fig. 1に示すように、脳組織は虚血が始まった直後から、血流低下に対して閾值的に種々の反応を示す。Astrupらは、baboonを用いた実験結果から、脱分極に伴う電位依存性K⁺チャネルの開口による細胞内から外へのK⁺流出によって細胞外K⁺濃度上昇が明らかとなる脳血流量約6mL/100g/minと、体性感覚誘発電位反応の消失する脳血流量15mL/100g/minの間の血流値を示す領域をペナンブラ(penumbra)と呼称した⁴⁾。この領域ではATP減少に伴う神経機能抑制は生じているが、虚血性脱分極に伴う電位依存性イオンチャネルの爆発的開口が生じておらず、細胞死に至っていないと考えられる。このペナンブラは空間的には梗塞巣と正常脳組織の中間に位置し、まだ梗塞化しておらず適切な治療

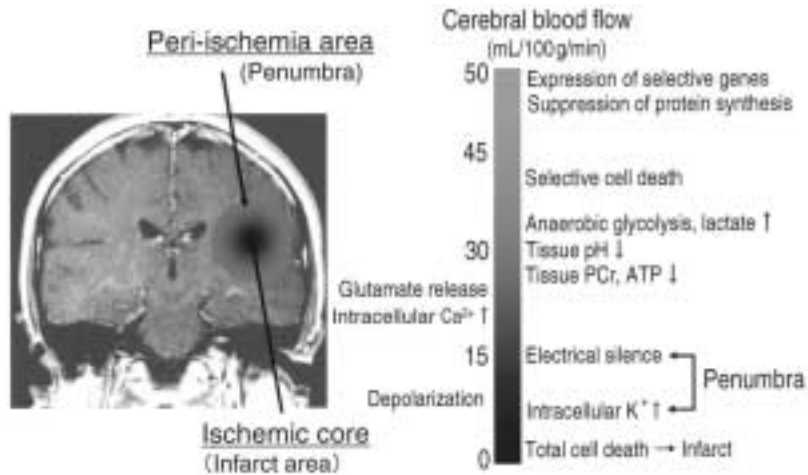


Figure 1 Level of cerebral blood flow and metabolic responses of brain tissue. Penumbra area surrounds ischemic core.

によって回復し得る領域として、急性期治療の重要なターゲットとなっている。ペナブラを規定する脳血流量閾値、すなわち細胞膜機能が破綻し梗塞化する脳血流量値は虚血持続時間の延長とともに徐々に上昇し、24～48時間後には電気的活動抑制を来す血流量値と近似するようになり、虚血周辺部のペナブラ領域も梗塞化してくる。

虚血時の各組織反応をもう少し長い時間経過で示すとFig. 2 のようになる。虚血開始直後の細胞傷害には上記のように虚血性脱分極と、神経細胞体 (soma) と樹状突起 (dendrites) よりなる灰白質ではグルタミン酸や Ca^{2+} が重要な役割を果たしている。なおグルタミン酸や Ca^{2+} による細胞傷害を興奮性細胞傷害 (excitotoxicity) と呼ぶこともある。一方、白質ではRanvier絞輪部で軸索内へ Na^+ が大量に流入してくる。

虚血巣周辺部では、虚血発症後少し遅れてさまざまな組織傷害機転が誘導されてくる。すなわち、フリーラジカル産生に伴う酸化的傷害 (oxidative injury)、二次的血栓形成などによる微小循環障害、多核白血球とマクロファージの浸潤やcyclooxygenase 2 活性化などの炎症性反応、アポトーシスによる細胞死機転の出現が明らかとなってくる。アポトーシスは神経細胞のみならずオリゴデンドロサイトでも生じており、灰白質傷害のみならず白質や髄鞘傷害にも大きく関与している⁵⁾。

上記の各種組織傷害機転の誘導とともに、細胞内情

報伝達系では多くの蛋白のリン酸化が種々のリン酸化酵素活性化によって生じてくる。Fig. 3 上段にその中で代表的なものを示した。リン酸化にはATPが必要となるので、虚血中心部では虚血開始直後一過性に、周辺部では比較的持続的に活性化が起こることが原則である。AktやCREBのように主に細胞保護的に作用するもの以外に、c-JunやNF κ Bのように主に細胞傷害的に作用するシグナルの活性化など、空間的および時間的に各種シグナルの活性化や抑制が生じてくる。これらシグナルの上流には、細胞内 Ca^{2+} 上昇、cyclic AMPなどのセカンドメッセンジャーの賦活化、各種成長因子受容体の活性化などが関与している^{6,7)}。

Fig. 3 下段には、各種遺伝子 (mRNA) の経時的発現を図示した。最近にcDNA array法などによって少量の脳組織サンプルから同時に多くのmRNA発現が検出できるようになって、この領域における情報量は格段に増加している⁸⁾。今後はこれらの膨大な情報をいかに評価していくかが重要な課題になってくるだろう。

灰白質と白質における虚血性傷害機序の相違

以下の事実は、白質、特にオリゴデンドロサイトとミエリンが、酸化的傷害を特に受けやすいことを示している。

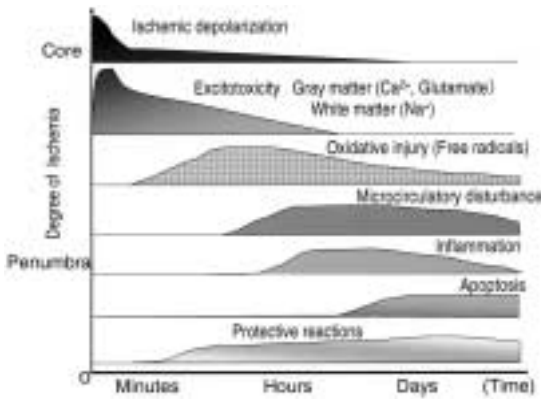


Figure 2 Various mechanisms of ischemic brain damage sequentially take place after the initiation of ischemia in ischemic core and penumbral region.

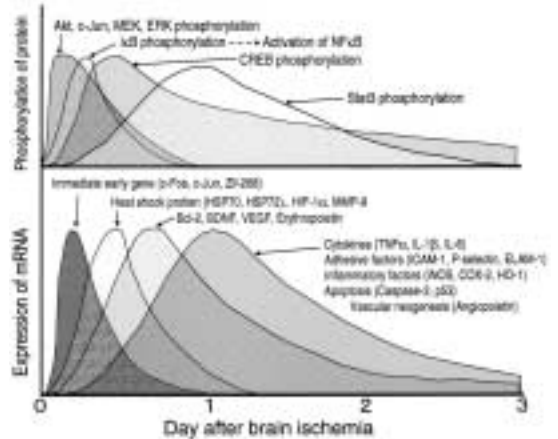


Figure 3 Protein phosphorylation and expression of mRNA in the brain tissue after ischemia.

MEK: mitogen-activated protein kinase kinase, ERK: extra-cellular signal-regulated protein kinase, $\text{i}\kappa\text{B}$: inhibitor κB , $\text{NF}\kappa\text{B}$: nuclear factor κB , CREB: cyclic AMP response element binding protein, HIF: hypoxia-inducible factor, MMP: matrix metalloproteinase, Bcl-2: B-cell CLL/lymphoma-2, BDNF: brain derived neurotrophic factor, VEGF: vascular endothelial growth factor, $\text{TNF-}\alpha$: tumor necrosis factor- α , $\text{IL-1}\beta$: interleukin-1 β , IL-6 : interleukin-6, Stat3: signal transducer and activator of transcription 3, ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1, ELAM-1: endothelial leukocyte adhesion molecule-1, HO-1: heme oxygenase-1, HSP70: heat shock protein 70, COX-2: cyclooxygenase-2, iNOS: inducible nitric oxide synthase

(1) ヒト脳に占める白質の割合

近年、虚血性組織傷害機序については、ラットやマウスなど小動物の脳梗塞モデルでほとんど検討されるようになってきている。ラットやマウスなど小動物の脳ではその85～90%を灰白質が占めているのに対し、ヒト脳では灰白質は脳全体の約50%を占めるのみで、白質が梗塞病変の主な場であることも多い^{1,9)}。現在基礎研究の主体である小動物の脳梗塞モデルは基本的に灰白質傷害モデルであり、白質傷害が主体であることが大変多いヒト脳梗塞の病態や薬剤の治療効果を評価することは不可能に近いと考えられる¹⁾。灰白質とはかなり異なる白質の虚血性傷害機序を正確に把握することは、ヒト脳梗塞の治療戦略を組み立てていくうえで大変重要なポイントである。

(2) 灰白質と白質におけるイオンチャネル分布の違い

Fig. 4に、灰白質と白質の基本的な生化学的相違を图示した。灰白質の主要な構成要素は神経細胞の細胞体と樹状突起であり、そこには多くの電位依存性 Ca^{2+} チャネルが存在し、多数のグルタミン酸作動性神経線維がシナプスを形成し、シナプス後膜側にはNMDA受容体などのグルタミン酸受容体が集積している。一方、白質の主要な構成要素である神経線維の軸索はミエリンで覆われ、約150 μm から1mmの間隔で存在するRanvier絞輪部では電位依存性 Na^{+} チャネルは約2,000個/ μm^2 の高密度で存在し、 $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATPase}$ も多く存在する¹¹⁾。しか

し同部にはNMDA受容体などのグルタミン酸受容体や電位依存性 Ca^{2+} チャネルは存在しない。また、オリゴデンドロサイトにはグルタミン酸受容体としてNMDA受容体は存在せず、AMPA/kainate受容体のみ存在している。

以上より、虚血時の興奮性傷害機序も灰白質と白質では大きく異なる。すなわち、灰白質ではグルタミン酸や Ca^{2+} が細胞傷害に大きく関与するが、白質では Na^{+} 流入による軸索浮腫や後述のように酸化的傷害機序が重要であると考えられる。

(3) 白質は酸化的傷害を大変受けやすい

(a) 灰白質と白質における脂質含有量の違い

白質には灰白質とは異なり酸化的ストレスを大変受けやすい生化学的側面がある。その一つは、脂肪含有量で、灰白質では約30%であるのに対し、白質では約55%と有意に多いことである³⁾。それは白質の50%を占めるミエリンの70～80%が脂肪であることによる。脂肪が多いことは脂質過酸化反応による傷害を強く受

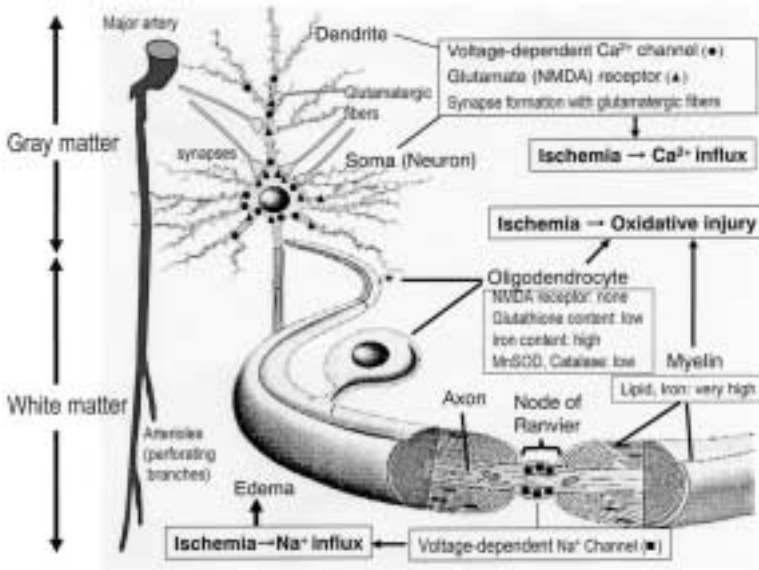


Figure 4 Mechanisms of ischemic brain damage in the gray and the white matters.

けやすい。

- (b) 灰白質と白質における抗酸化物質や鉄含有量の違い
オリゴデンドロサイトは抗酸化物質の一つである glutathione 含量が少ない¹²⁾。また、成熟オリゴデンドロサイトでは、ミトコンドリアに存在し superoxide ($\cdot\text{O}_2^-$) を無毒化する Mn-superoxide dismutase や catalase が大変少ない¹³⁾。一方で、オリゴデンドロサイトは成熟脳では鉄分子結合蛋白である transferrin の主要な産生細胞であることから、オリゴデンドロサイト細胞体およびミエリンは同じく白質に存在するアストロサイトと比較して有意に鉄含量が多い¹²⁾。そのため、Fenton 反応や Haber-Weiss 反応を介し最も細胞傷害作用の強いフリーラジカルである hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) 産生が促進される。白質で産生された hydroxyl radical は上記のように、脂質過酸化作用によってミエリンを破壊し、軸索伝導を阻害することで重篤な神経機能障害を惹起する。
- (c) 白質微小循環 (穿通枝、髄質枝) の酸化的傷害

脳実質内血管壁は Table 1 に示すように、多くの活性酸素種産生酵素の発現部位である。そのため脳実質内血管内皮細胞は、内皮および脳実質において産生される $\cdot\text{NO}$ と superoxide ($\cdot\text{O}_2^-$) より合成され強力な酸化作用を有する peroxynitrite (ONOO^-) の主な産生部位となり、ニトロチロシン化を受け損傷される¹⁰⁾。その結果、脳循環自動調節機能を始め重要な血管調節機能は障害され、血液脳関門も破壊される。すなわち、白質微小循

環もフリーラジカルによる傷害を大変受けやすい。

活性酸素種・フリーラジカル

Table 1 に示すように、脳組織内にはフリーラジカルを含め活性酸素種を産生する酵素が広範に存在する。そのため、Fig. 5 のように、虚血時には酸素と L-arginine からフリーラジカルや活性酸素種が神経細胞、アストロサイト、ミクログリアなど各種実質内細胞のみならず血管内皮細胞や白血球でも多量に産生される。脳内で産生される代表的なフリーラジカルである superoxide ($\cdot\text{O}_2^-$) は生体内では superoxide dismutase (SOD) や glutathione peroxidase, catalase の働きで無毒化されるが、 Fe^{2+} のような 2 価の金属イオン、その他の遷移金属が存在すると、Fenton 反応や Haber-Weiss 反応によって一層強力なフリーラジカルである hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) に変化する。その結果、Fig. 6 に示したごとく、脳虚血時には種々の経路でフリーラジカルが産生され細胞傷害を来してくる。

脳内に普遍的に存在するフリーラジカルの一つである $\cdot\text{NO}$ は脳組織保護作用と傷害作用の両極作用を有しており、脳虚血時の役割については単純ではない¹⁰⁾。superoxide は SOD よりも $\cdot\text{NO}$ に対してより親和性が高く、両者は反応して活性酸素種の一つである peroxynitrite (ONOO^-) を産生する。peroxynitrite は大変強力な酸化作用を示し白質のミエリンや軸索に対しても直接的傷害作

Table 1 Localization of enzymes which produce reactive oxygen species including free radicals in the brain

Enzyme	Gene/Protein	ROS	Activation by Ca ²⁺	Expression	Localization
Neuronal NO synthase	NOS-1	• NO	+	C	neuron, perivascular nerve
Inducible NO synthase	NOS-2	• NO	-	I	leukocyte, microglia, astrocyte, endothelial cell
Endothelial NO synthase	NOS-3	• NO	+	C	endothelial cell, platelet
Xanthine dehydrogenase/ xanthine oxidase	XDH/XO	• O ₂ ⁻	+	C	endothelial cell
Cyclooxygenase-1	COX-1	• O ₂ ⁻	-	C	neuron, astrocyte, microglia, endothelial cell
Cyclooxygenase-2	COX-2	• O ₂ ⁻	-	I/C	neuron, astrocyte, microglia, endothelial cell
NADPH oxidase	NADPHO	• O ₂ ⁻	-	C	leukocyte, microglia vascular smooth muscle
Myeloperoxidase	MPO	HOCL	-	C	leukocyte, microglia
Monoamine oxidase	MAO	H ₂ O ₂	-	C	neuron, astrocyte, endothelial cell

NO: nitric oxide, NADPH: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form, NOS: NO synthase, XDH: xanthine dehydrogenase, XO: xanthine oxidase, COX: cyclooxygenase, NADPHO: NADPH oxidase, MPO: myeloperoxidase, MAO: monoamine oxidase, C: constitutive, I: inducible

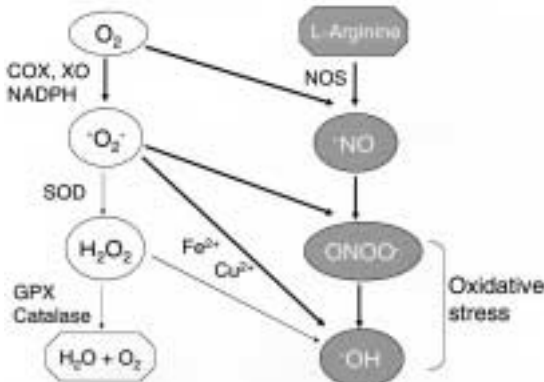


Figure 5 Reaction of reactive oxygen species in brain ischemia. COX: cyclooxygenase, XO: xanthine oxidase, NADPH: NADPH oxidase, SOD: superoxide dismutase, GPX: glutathione peroxidase, NOS: nitric oxide synthase

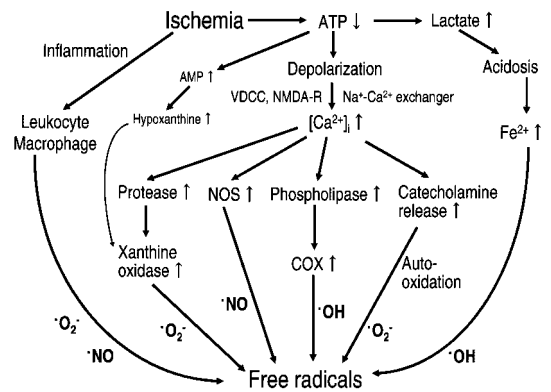


Figure 6 Routes of free radical production in brain ischemia.

用を示すことが明らかとなった。さらに実質内細胞のみでなく、血管壁でも NO 産生が虚血・再灌流開始後に亢進し peroxynitrite 産生があることは、血行再開時の出血性病変出現など再灌流傷害 (reperfusion injury) にフリーラジカルが大きく関与していることを示唆している。

ペナンブラ領域の再灌流に依存した変化

最近、diffusion-weighted magnetic resonance imaging (DWI) や perfusion-weighted magnetic resonance imaging (PWI) の普及とともに、臨床的にペナンブラに相当する領域や梗塞巣の描出が経時的に可能となってきた。

Fig. 7 に示すように、ペナンブラは虚血中心領域の周

囲に存在し、DWI 陽性の領域と DWI 陰性の領域の両者が含まれる。すなわち、発症 3~6 時間以内の脳梗塞超急性期における DWI 陽性領域には、再灌流の有無によらず梗塞化する虚血中心領域と、再灌流によって少なくとも一時的には正常化する領域が含まれる。後者の領域の中でも特に虚血中心部に近い領域では、その後の経過で再灌流傷害 (酸化的傷害, 炎症反応などによる) やアポトーシスなどの機序で最終的に梗塞化する場合もあるが、再灌流が十分早期に起こればペナンブラのかなりの部分は梗塞化から免れる。一方、再灌流なく虚血が続く時は、ペナンブラ領域も最終的に梗塞化する。

なお、PWI陽性領域とDWI陽性領域の差，すなわち diffusion-perfusion mismatch領域を臨床的にペナブラとみなすことが多いが，この定義ではFig. 7に示すようにペナブラ領域を過小評価している可能性がある。すなわち，超急性期のDWI陽性領域にもペナブラに相当し再灌流によって救済し得る領域のあることが，近年の血栓溶解療法施行症例などで明らかにされている。MRI以外に，臨床的にはPETやSPECTによる脳血流量あるいは脳酸素代謝測定， ^{11}C -flumazenilや ^{11}C -fluoromisonidazole， ^{123}I -iomazenilなどの神経細胞代謝マーカーなどによってペナブラに相当する領域を描出する方法が工夫されている。

おわりに

現在diffusion MRIやperfusion MRIあるいはxenon-CT CBF法などによって，脳梗塞超急性期，ペナブラ領域の局在がかなり正確に把握可能となってきた。脳血流を守る抗血栓療法は血栓溶解療法を含め実際の臨床応用がかなり進展してきているが，いわゆる脳保護療法は現在わが国でのedaravoneを除き臨床応用は全く始まっていない。この原因の一つとして，本稿で述べたようにヒト脳梗塞の病態を十分に反映しない基礎研究や，病巣局在(灰白質か白質か)を考慮しない臨床試験のあり方があると思われる。今後は，病巣局在に特異的な保護療法が開発され，抗血栓療法とともに脳梗塞急性期治療の両輪となり最大限の治療効果を上げることを期待したい。

文 献

- 1) 田中耕太郎：脳虚血モデルの変遷と問題点．分子脳血管病，2002，1：97-103．
- 2) Tanaka K, Nogawa S, Ito D et al: Phosphorylation of cyclic adenosine monophosphate response element binding protein in oligodendrocytes in the corpus callosum after focal cerebral ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2001, 21: 1177-1188.
- 3) Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW et al: Basic Neurochemistry, 6th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1999, 1-1183.
- 4) Astrup J, Symon L, Branston NM et al: Cortical evoked potential and extracellular K^+ and H^+ at critical levels of brain ischemia. *Stroke*, 1977, 8: 51-57.
- 5) 田中耕太郎：オリゴデンドロサイトのアポトーシス．

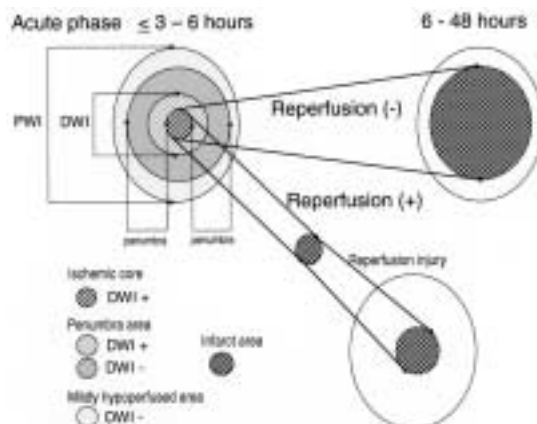


Figure 7 Alteration of diffusion-weighted MRI (DWI)-positive areas and perfusion-weighted MRI (PWI)-positive areas in the acute phase of cerebral ischemia. Diffusion-perfusion mismatch area may underestimate the curable area, because some of the DWI-positive areas may be rescued with early reperfusion and appropriate protective treatment.

分子脳血管病，2002，1：269-275．

- 6) 田中耕太郎：細胞内シグナル伝達．神経・筋疾患の最新医療(杉田秀夫，福内靖男，柴崎浩監修)，先端医療技術研究所，東京，2001，33-43．
- 7) Tanaka K: Alteration of second messengers during acute cerebral ischemia - adenylate cyclase, cyclic AMP-dependent protein kinase, and cyclic AMP response element binding protein. *Prog Neurobiol*, 2001, 65: 173-207.
- 8) Hayashi T, Noshita N, Sugawara T et al: Temporal profile of angiogenesis and expression of related genes in the brain after ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23: 166-180.
- 9) 田中耕太郎：急性期脳虚血病態解明の進歩 臨床的視点から．治療学，2003，37：908-917．
- 10) 田中耕太郎：脳卒中におけるNOの功罪．Annual Review 神経 1999(後藤文男，高倉公明，木下真男他編)，中外医学社，東京，1999，137-167．
- 11) Ellisman M, Deerinck T, Bennett V: Structure and formation of the node of Ranvier. In: *Glial Cell Development*, 2nd ed, Jessen KR, Richardson WD, eds, Oxford University Press, Oxford, 2001, 131-160.
- 12) Thorburne SK, Juurlink BH: Low glutathione and high iron govern the susceptibility of oligodendroglial precursors to oxidative stress. *J Neurochem*, 1996, 67: 1014-1022.
- 13) Bernardo A, Greco A, Levi G et al: Differential lipid peroxidation, Mn superoxide, and bcl-2 expression contribute to the maturation-dependent vulnerability of oligodendrocytes to oxidative stress. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2003, 62: 509-519.

Pathophysiology of Acute Cerebral Ischemia A Review from a Clinical Viewpoint

Kortaro Tanaka, Shigeru Nogawa, Eiichiro Nagata, Shigeaki Suzuki, Tomohisa Dembo, and Arifumi Kosakai

Department of Neurology, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

Key words: cerebral ischemia, excitotoxicity, free radicals, white matter injury, leukoprotection

Normal brain function is totally dependent upon an ample and constant supply of oxygen and glucose via cerebral blood flow (CBF). Critical reduction of CBF sequentially induces ischemic depolarization, excitotoxicity mediated by Ca^{2+} , Na^{+} and glutamate, oxidative injury mediated by reactive oxygen species, secondary microcirculatory disturbance, inflammatory reactions and apoptosis in the brain tissue. White matter accounts for 50% of the total brain volume in the human, whereas it occupies only 10–15% in the rodents such as rats and mice. Mechanism of ischemic injury is very different between the gray and the white matters, especially in the very acute phase, because Ca^{2+} and glutamate play important roles in the gray matter, but not in the white matter. In the white matter, Na^{+} (edema formation) and free radicals play pivotal roles, suggesting that an anti-oxidant therapy may be very efficient. Universal use of Ca^{2+} antagonist or glutamate antagonist may not be appropriate because Ca^{2+} and glutamate basically belong to physiological mediators in the central nervous system. In combination with anti-thrombus treatment, location of lesion-based (gray matter or white matter) treatment should be developed to protect individual brain regions in the near future to obtain maximal efficacy of treatment in acute brain ischemia. (J Jpn Coll Angiol, 2004, **44**: 217–223)