

財団法人日中医学協会
2008年度共同研究等助成金—中国人研究者・技術者招聘—報告書

平成 20 年 9 月 18 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った中国人研究者・技術者招聘について報告いたします。

添付資料： 研究報告書

受給者氏名： 森 則夫 
所属機関名： 浜松医科大学
所属部署： 精神神経科 職名： 教授
〒431-3192
所在地： 浜松市東区半田山 1-20-1
電話： 053-435-2295 内線： _____
(直通)

1. 助成金額： 70万 円

2. 研究テーマ

新生血管構築による新たな統合失調症治療の開拓と微小循環動態

3. 成果の概要 (100字程度)

X線照射モデル(統合失調症モデル)で、前頭葉皮質と海馬で血液脳関門の透過性増大を確認し、微小循環動態の計測法を確立した。これを基礎に、脳内微小循環を改善する手法を確立し、その効果を調べた。

4. 被招聘者

氏名： 金 学隆 職名： 教授
所属機関： 天津医科大学 部署： 生理学教室

5. 滞在日程概要 (日付、主な活動・工程等)

6月8日～6月15日 第1回来日

(1) 研究打ち合わせ。(2) 日本脳科学会(6月13～14日、東京)にて微小循環の計測手法について発表。

7月24日～8月18日 第2回来日

(1) 動物モデルでの血液脳関門の透過性について研究。(2) 中国における精神神経疾患の微小循環研究と、そのための科学誌発行の打ち合わせ(8月6日、日本大学医学部(日本脳科学会編集局))。(3) 脳内微小循環に及ぼす再田療法の影響について共同研究の打ち合わせ(8月7日、再田療法研究所)

新生血管構築による新たな統合失調症治療法の開拓と微小循環動態

研究者氏名	金 学隆
中国所属機関	天津医科大学生理学教室
日本研究機関	浜松医科大学精神神経医学講座
指導責任者	教授 森 則夫
共同研究者名	岩田泰秀, 鈴木勝昭

要 旨

統合失調症では、微小循環系に異常が生じている可能性がある。本研究では、統合失調症の動物モデルである X 線照射モデルを用い、このモデルにおける基礎運動量、社会的行動、驚愕反応における先行刺激による抑制 (PPI) を評価するとともに、脳内における脳血液関門 (BBB) の透過性の異常の有無を血液成分の内在的マーカーである IgG を指標に検討した。その結果、X 線照射モデルでは基礎運動量に異常はなかったが、社会的行動の減少と PPI の低下が認められた。脳内では、前頭葉皮質と海馬において脳実質内の IgG 様反応の増加が認められた。以上から、X 線照射モデルは統合失調症患者にみられる BBB の異常をも再現している可能性が示唆された。

Key Words: 統合失調症、脳血液関門、微小循環、X 線照射、IgG

緒 言 :

統合失調症は幻覚、妄想、解体した会話などの陽性症状と、感情の平板化、意欲の欠如、思考の貧困などの陰性症状とにより特徴づけられる原因不明の精神疾患である。その病因はいまだ明らかではないが、その病態の一部に脳内ドパミン系の異常の存在が想定されている。統合失調症の治療にはドパミン受容体遮断作用を持つ薬物が用いられ、陽性症状に対し有効であるが、陰性症状への効果は限られている。したがって、陰性症状に対する効果的な治療法の開発が待たれている。

統合失調症では脳内循環系に機能的、かつ、形態的異常が生じていることが多くの研究により示唆されている。例えば、統合失調症患者では、脳全体の血管容量が健常者より増加している¹⁾。統合失調症患者では、後頭葉、視床、小脳などで循環速度が健常者よりも速い²⁾。統合失調症患者の脳内血流量は脳部位により異なる。前頭葉では血流量が低下しており、この低下は統合失調症の陰性症状に関係している。これに対し、視床、帯状回、小脳などでは増加している³⁾。さらに、統合失調症では血液脳関門の透過性が増している⁴⁾。以上の知見から、統合失調症の陰性症状の背景に、脳内循環系の異常が存在することが示唆される。

さて、成人の末梢血分画から単離される CD34 陽性細胞は血管内皮細胞にも分化し、生体の虚血部位においては血管新生に必要なものである。最近のげっ歯類を用いた実験から、CD34 陽性細胞は、それを脳内局所に注入した場合にも^{5,6)}、全身性に投与した場合にも⁵⁾、脳虚血部位の血管新生を促し、虚血部位を縮小させることが報告されている。以上の知見を勘案すると、先に述べた統合失調症に想定される脳内循環系の異常を CD34 陽性細胞の移植により改善させることで、統合失調症の症状、とりわけ陰性症状を改善させることが可能かもしれない。

本研究では、統合失調症の動物モデルである X 線照射モデル⁷⁾を用い、このモデルの脳内血管系に起きている変化を明らかにするために、脳血液関門の透過性が亢進しているか否かを検討した。

対象と方法：

X線照射モデルの作成

成熟（8週齢）Sprague Dawley系雄性ラット20匹を用いた。深麻酔下にラットの頭部を定位脳固定装置に固定し、interaural line から吻側へ1.5 mm～11.5 mm、側方幅15 mmの領域（側脳室と海馬歯状回を含む）に5GyのX線照射を週2回の割合で、計6回行い、これを照射群(n=10)とした。照射野以外の部分は鉛板で防護した。X線照射を除き照射群と同様に処置した動物を作成し、偽照射群(n=10)とした。

行動学的評価

X線照射の3ヶ月後に、以下の評価を行った。

(i) 基礎運動量の評価：赤外線センサーによる行動量測定装置（SCANET SV-10；株メルクエスト製）を用いて基礎運動量を測定した。

(ii) 社会的行動評価：ラットは通常お互いの身体接触を好む。この社会的行動における障害の有無を検討した。異なるケージで飼育されたラット2匹を、50cm×50cmのオープンフィールド内に置き、5分の観察時間内に見られた社会的行動（相手に対して行なわれる臭いかぎ、追尾などの自発的行動）に費やす時間を測定した。

(iii) 感覚運動系機能評価：統合失調症の生物学的マーカーと目されている、聴覚刺激に対する驚愕反応の先行刺激による抑制（prepulse inhibition：PPI）の障害の有無を検討した。ラット用PPI測定装置（San Diego Instruments社製）を用いてPPIの障害の有無を評価した。

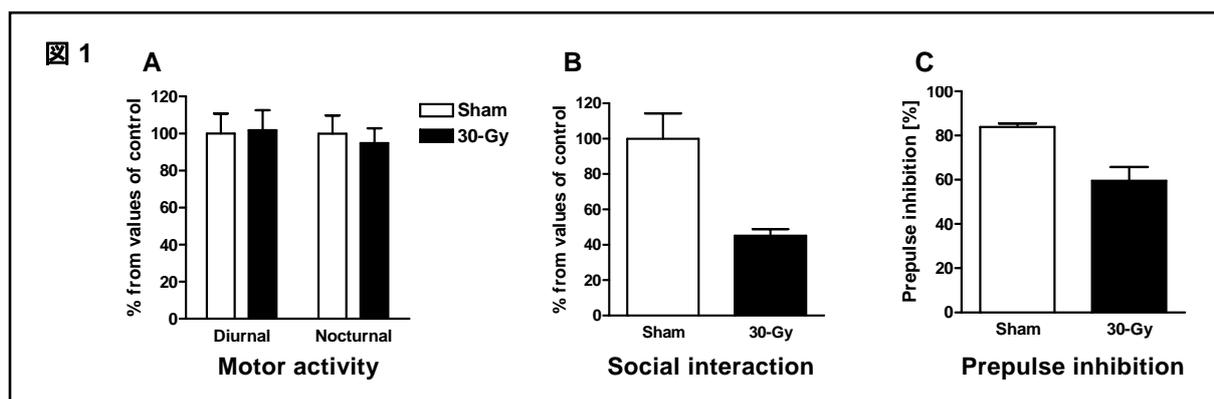
組織学的評価

行動学的評価の終了後、動物をネンブタール(50 mg/kg)の腹腔内投与により深麻酔下におき、経心臓的に0.01Mリン酸緩衝生理食塩水を5分間灌流し脱血した後、0.1Mリン酸緩衝4%パラホルムアルデヒド液により灌流固定し、脳を取り出した。脳をドライアイスにて凍結し、クリオスタットにより40- μ m厚の冠状断凍結切片を作成した。前頭皮質と海馬を含む切片を選び、ビオチン化抗ラットIgGポリクロナール抗体（Vector社製）を用いた免疫組織化学法に供した。Bectastain ABC Elite kit（Vector社製）とdiaminobenzidine（Sigma-Aldrich社製）により可視化後、光顕用プレパラートを作成し、前頭皮質と海馬における脳実質内の免疫反応を照射群と偽照射群とで比較した。

結果：

行動学的評価

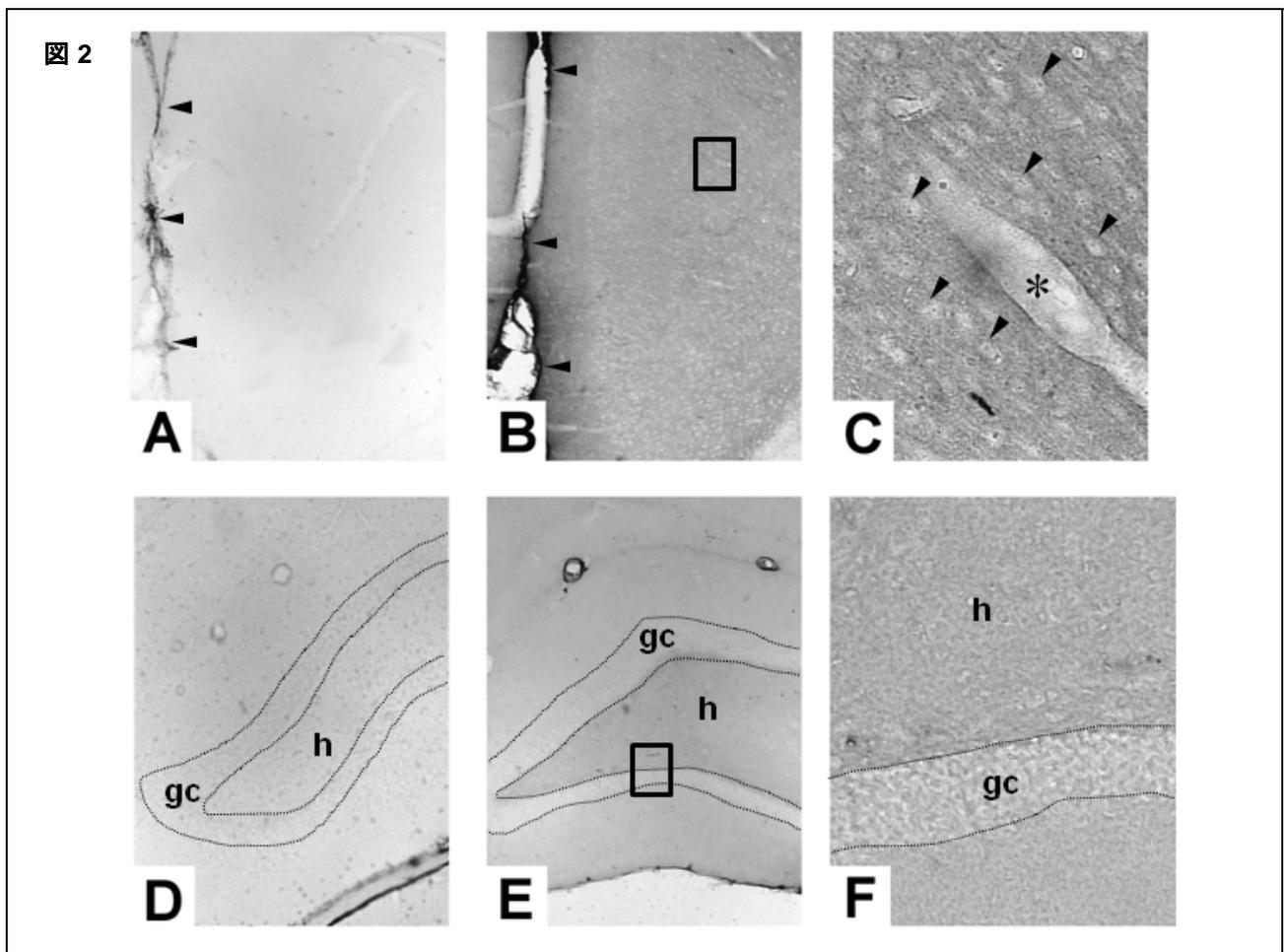
基礎運動量を測定した結果を図1Aに示す。6:00～18:00（Diurnal）と、18:00～6:00（Nocturnal）とのいずれの時間帯においても、照射群(30-Gy)と偽照射群(Sham)との間に有意な運動量の差はなかった。



社会的行動評価の結果を図 1B に示す。照射群は偽照射群に比べ、社会的行動を示す時間が有意に短かった。感覚運動系機能評価の結果を図 1C に示す。照射群は偽照射群に比べ有意に PPI が障害されていた。

組織学的評価

抗 IgG 免疫組織化学の結果を図 2 に示す。前頭皮質(A~C)と海馬(D~F)について、偽照射群(A, D)と照射群(B, C, E, F)より各 1 匹を例示した。前頭皮質においては、偽照射群では軟膜(A, 矢頭)のみに強い IgG 様反応を認めた。照射群では、軟膜に加え大脳皮質の実質内に IgG 様反応を認めた(B)。強拡大での観察(C)においては錐体細胞の細胞体が IgG 様反応の欠損として認められた(C, 矢頭)。また細血管(*)の血管壁に境界不明瞭な IgG 様反応の集積を認めた(C)。海馬においては、偽照射群ではそうではなかったが、照射群においてはびまん性の IgG 様反応を認め、その反応は門(h)において強く、顆粒細胞層(gc)で弱かった(B, C)。



考 察：

本研究において、X 線照射に曝露されたラットは社会的行動の低下と PPI で示される感覚運動系機能の障害とを示し、我々の先の報告⁷⁾が支持された。さらに、本研究から、X 線照射モデルの脳実質内において IgG 様反応が増加していることが明らかにされた。この結果は、X 線照射を受けた動物の BBB が IgG のような巨大分子(分子量 15,000)を容易に通過させる状態にあることを示している。このことから、X 線照射モデルの前頭葉と海馬で BBB の透過性が亢進していることが示唆される。

本研究により、脳内微小循環動態の計測法を確立した。今後、脳内微小循環を改善する手法を開発し、その効果を明らかにするとともに、臨床への応用を検討していく予定である。

参考文献：

- 1) Cohen BM, et al. Abnormalities of regional distribution of cerebral vasculature in schizophrenia detected by dynamic susceptibility contrast MRI. *Am J Psychiatry* 1995; 152:1801-3.
- 2) Andreasen NC, et al. Hypofrontality in schizophrenia: distributed dysfunctional circuits in neuroleptic-naive patients. *Lancet* 1997; 349:1730-4.
- 3) Franck N, et al. Cerebral blood flow changes associated with Schneiderian first-rank symptoms in schizophrenia. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2002; 14:277-82.
- 4) Müller N, et al. Increase in expression of adhesion molecule receptors on T helper cells during antipsychotic treatment and relationship to blood-brain barrier permeability in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1999; 156:634-6.
- 5) Taguchi A, et al. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 2004; 114:330-8.
- 6) Shyu WC, et al. Intracerebral peripheral blood stem cell (CD34+) implantation induces neuroplasticity by enhancing beta1 integrin-mediated angiogenesis in chronic stroke rats. *J Neurosci* 2006; 26:3444-53.
- 7) Iwata Y et al. Irradiation in adulthood as a new model of schizophrenia. *PLoS ONE*. 2008; 3:e2283.