

〈ニセコ(札幌)カンファレンス〉

中枢神経系の成長因子と脳虚血

大阪大学医学部 脳神経外科 山田 和雄

1. 神経栄養因子とは

中枢神経系のニューロンは成長、分化し、その機能を維持するため、特定の成長因子を必要とすることが最近明らかになってきた。このニューロンに働く成長因子群は神経栄養因子 (Neurotrophic factor) と呼ばれており、これまでにその作用が明らかにされたものの構造を Fig. 1 にしめす。この中で最もよく研究されておりその機能が明らかなものが神経成長因子 (NGF) である。一方、bFGF は最近までその立体構造が明らかでなかった。

NGF は Bueker ら³⁾の研究からその存在が示唆されたものである。彼はマウス180肉腫を3日齢の鶏胚に移植すると近傍の後根神経節から知覚性神経が腫瘍内に伸びることを、また運動神経は全く伸長しないことをみいだした。このことから腫瘍細胞が知覚神経細胞の成長を促進する何らかの物質を放出しているのであろうと推定した。この知見を発展させ、NGF 存在の確証を得たのが Levi-Montalcini である。彼女は8日齢の鶏胚後根神経節を培養し、マウス180肉腫片を共存させると、神経節からの神経突起の伸展が著しく促進されることを見だし

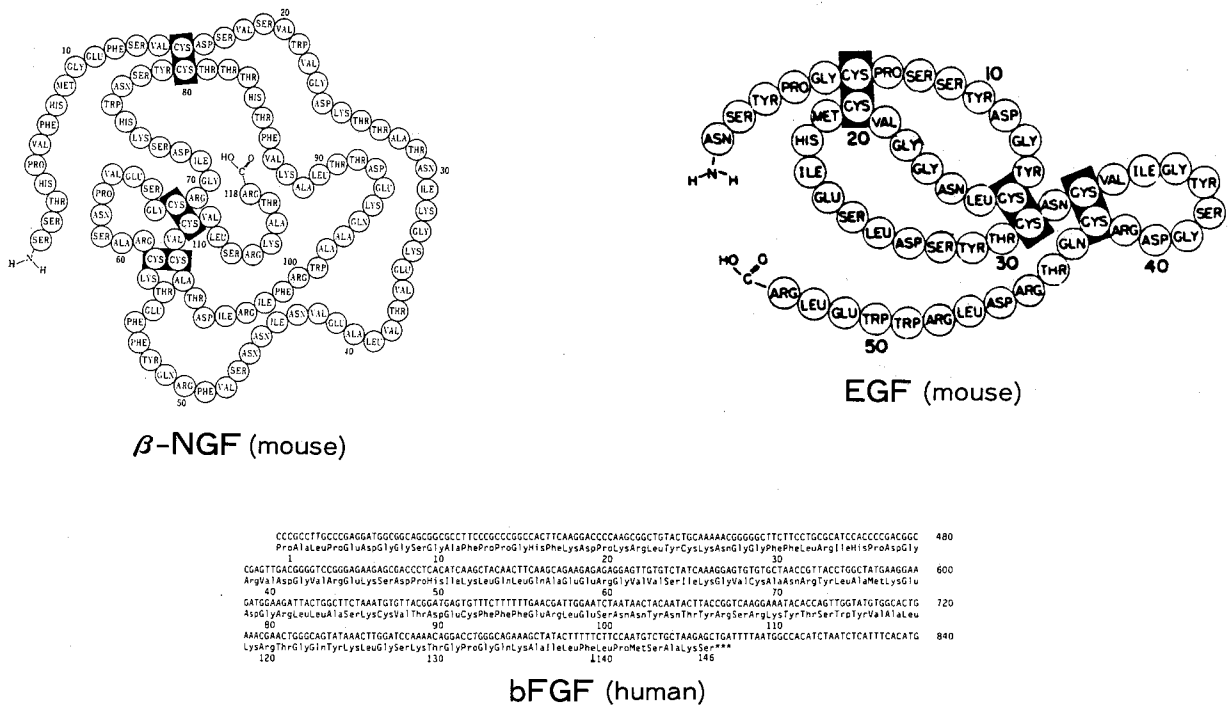


Fig.1 中枢神経系のニューロンに働く神経栄養因子の構造。

た²⁰⁾²¹⁾。その後 NGF が雄マウスの顎下腺に多いことがわかり、Cohen⁴⁾によってその構造が明らかにされた。さらに1980年代になっていくつかの施設より中枢神経系においても NGF が存在し、コリナージックニューロンの生存に深くかかわっていることが明らかにされるに及んで、この分野の研究が爆発的に増加しつつある。

このような成長因子はニューロンやグリアで作られ、作用対象となるニューロンの神経終末にある特異的セレプターに結合して取り込まれ、逆行性輸送によって神経細胞に運ばれ、そこで作用を発揮することが確かめられている。したがってこのような成長因子類は Target-derived growth factor と呼ばれている。たとえば中隔野-海馬系のコリナージックニューロンについてみると、NGF のメッセンジャー RNA が海馬錐体細胞で発現していることから、NGF は海馬錐体細胞で産生され、海馬内の中隔野神経終末に取り込まれるものと判断できる²⁾¹⁸⁾。このとき海馬采の切断によって神経終末からの神経栄養因子の供給を絶つと、中隔野の細胞体に逆行変性が起こることは興味ある事実である。さらに海馬采を切断すると海馬の NGF が一時的に増加すること¹⁸⁾、このとき脳室内に外因性の NGF を投与するとこの逆行変性が防止するという報告⁹⁾²²⁾⁴⁰⁾は、神経成長栄養因子の重要性が認識されるきっかけとなった。

しかし NGF が関与するニューロンは中枢神経系ではコリナージックニューロンのみであり、その他のニューロンに対する作用は現在まで認められていない。そこでより幅広い中枢神経系のニューロンに働く塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF) や上皮成長因子 (EGF) などが最近注目されつつある。

2. 虚血性脳損傷に神経栄養因子が関与する可能性

従来の古典的な脳梗塞の概念では、梗塞による組織の損傷は虚血巣のみにおこり、虚血の範囲外には組織損傷は全く起らないものと考えられていた。しかし最近の研究では、短時間の虚血後徐々にかつ選択的にニューロンのみが壊死に陥る遅発性神経細胞壊死¹⁷⁾がみられたり、また虚血の範囲外の脳組織にも神経回路網を介した二次性の損傷が広範囲に及ぶことが解明されてきた⁸⁾¹¹⁾³²⁾³⁴⁾³⁵⁾。私どもは従来よりこのような虚血の範囲外の二次的損傷に注目して研究を進めている。たとえば変性神経終末を渡銀法でマークすると、一次性的梗塞巣から外れた帯状回、視床、黒質、対側皮質などにも多くの変性

終末が認められた¹¹⁾ (Fig. 2)。このうち視床や黒質ではその後徐々に神経細胞自身の変性も起こり、これらの部位の萎縮も起こってしまうが⁸⁾³²⁾³⁵⁾、同じように変性終末が数多くみられる同側の帯状回や対側の皮質には変性や萎縮は見られない¹¹⁾³²⁾⁴²⁾。ここで虚血によって大脳及び視床のニューロンが軸索損傷を受けることは HRP の逆行輸送¹¹⁾や、neurofilament の免疫染色³²⁾によって証明されている。この視床における萎縮変性は逆行性変性、順行性変性、経シナプス変性などが関与すると思われるが、とくに逆行変性は神経栄養因子の細胞体へのサプライの障害とも関連して重要な要素である。一方、帯状回ニューロンに萎縮変性がみられない理由の1つとして、これらの組織では神経栄養因子の十分なサプライがあるものとも想定できる。そこでこの帯状回を含む虚血周囲脳皮質における神経栄養因子の存在を培養ニューロンを用いて検索した結果を次に述べる。

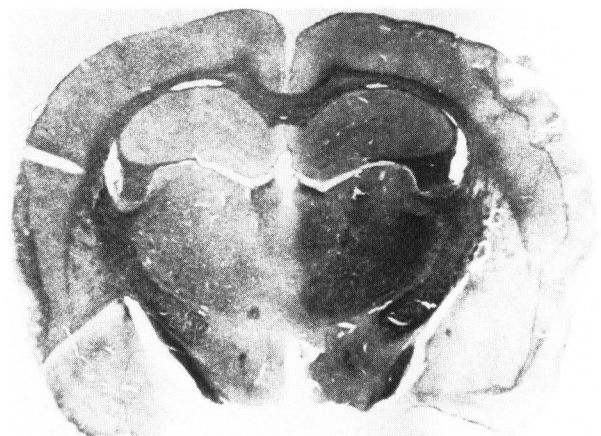


Fig.2 Fink-Heimer 法による変性神経終末の渡銀染色。梗塞側 (向かって右側) の帯状回、海馬采、視床、対側大脳皮質に黒く渡銀される変性神経終末を認める。

3. 虚血性神経栄養因子の部分精製

胎仔の大脳皮質と視床ニューロンの初代培養系をもちいて、この神経栄養活性の定量と、因子の部分精製を試みた。その結果この神経栄養活性は虚血の4日後にはみられず、8日して対側と比べて有意に高い活性が出現し、12日後にはさらに高い活性がみられた (Fig. 3)。また90℃10分間の熱処理でこの活性が消失することも明らかとなった。さらに組織抽出液の250ないし1250倍の希釈で活性はピークを示し、それ以上の希釈では併存する抑制因子のために活性はむしろ低下することも明らかとな

(ipsilateral/contralateral)

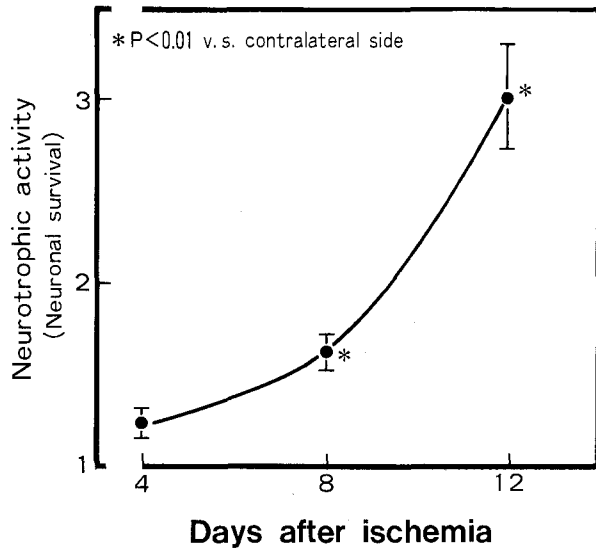


Fig.3 虚血周囲組織にみられる神経栄養活性の経時的変化。活性は梗塞側と対側の比で示す。

った⁴³⁾。この活性は初代培養系に Ara C を入れてグリアの働きを抑えても持続することから、この因子は直接ニューロンに働くことが推察された⁴¹⁾。そこでこの物質を精製するため、まず硫酸で分画すると、30%~60%の分画に最も強い活性が見いだされた。そこでこれをゲル濾過すると8 kDと22kD付近の分子量を持つ栄養因子の存在が明らかとなった⁴⁴⁾ (Fig. 4)。この活性は皮質抽出液にのみ認められ、視床抽出液には認めなかった。また皮質抽出液は皮質ニューロン、視床ニューロンともに生存維持効果が認められた。このことは視床ニューロンの変性がある種の神経栄養因子の供給の途絶によって起こるという仮説を説明するのに都合がよい。

この物質が新しいタイプのものか、EGF、bFGF、NGF など従来より知られている神経成長栄養因子であるのかは興味のあるところである。これまでに行った検索では、その活性は抗 EGF 抗体や、抗 NGF 抗体では抑制されず、抗 bFGF 抗体によって活性の一部が中和されることが明らかとなった。したがって、この活性は単一のものではなく、複数の物質によるものであり、またその一部は bFGF によることも明らかになった。

ではこのような神経栄養因子が出現するのに、なぜ視床には二次的変性が起こるのであろうか。一つの説明としては、Cotman ら⁵⁾が言うように、このような因子は損傷後1週間以上して出現するものであり、損傷直後に

ニューロンが因子を本当に必要とする時期に出現していなかったり、出現していても損傷されたニューロンが修復のために必要とする量が十分に供給されていないのではないかと説明である。しかしこの活性は虚血性損傷によって新たに出現するものであり、通常状態ではその

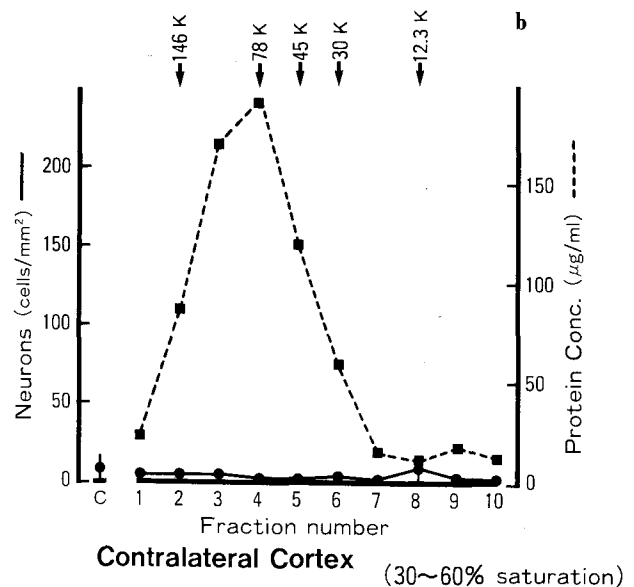
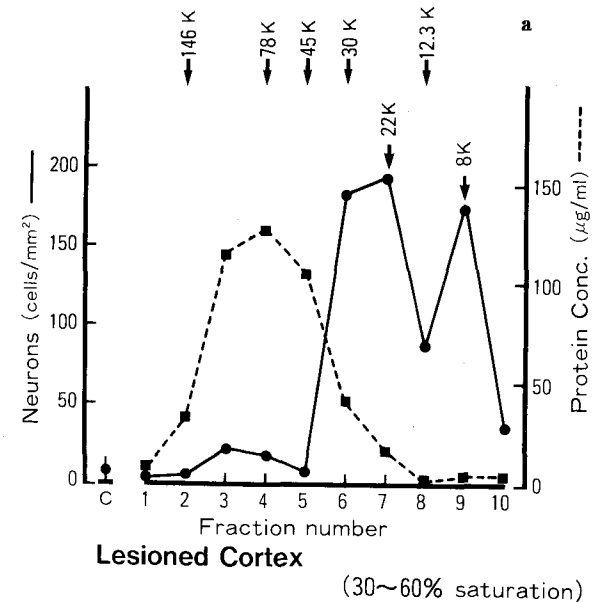


Fig.4 梗塞周囲皮質 (4-a) と対側皮質 (4-b) 抽出液のゲル濾過後の蛋白濃度と各フラクションの神経栄養活性。ゲル濾過は Superose 12 カラムを用いた。蛋白濃度は Bradford 法を用いて定量した。神経栄養活性は胎仔大脳皮質ニューロンを培養し、無血清培地に替えてから、4分の1容の抽出液を添加し、3日後の生存ニューロンの数を定量して求めた。

活性はみられないことから、この活性が通常状態での視床ニューロンの生存維持に関与しているとも考えにくい。したがってこの活性は視床ニューロンの維持に働く他の因子と共同して、軸索損傷時に視床ニューロンの生存に積極的に働くものかも知れない。この点については今後さらに検討する必要がある。

次に問題となるのはこのような神経栄養因子がどの細胞から産生されるのかということである。NGF がニューロンないしグリアから産生されるという報告はいくつかみられる。また最近では EGF やそのレセプターがニューロンに見いだされたり⁶⁾³⁹⁾、bFGF や aFGF が損傷部から産生されるという報告もみうけられる⁷⁾²⁸⁾。しかし私どもが部分精製した因子についてはニューロンあるいはグリアのどちらから産生されるかについて未だ不明である。

4. *in vitro* hypoxia モデルの作成と神経成長栄養因子の効果

各種の神経成長栄養因子の脳虚血に対する効果を効率的に検索するには、*in vitro* での虚血モデルの作成が必要となってくる。脳虚血の際にクリティカルな因子としては、低酸素状態と低グルコース状態が考えられる。そこで *in vitro* での脳虚血類似状態の作成をめざして、hypoxia model¹³⁾ および低グルコースモデルを作成した。脳虚血状態をシュミレーションし解析するためには、これらの状態を単独で、あるいは併用して培養ニューロンに負荷することが必要となる。

神経成長栄養因子による虚血性神経細胞傷害の治療を考慮する際に、リコンビナントタイプがすでに合成されているかどうかは重要なファクターであろう。このような観点から私どもは EGF と bFGF を最初を選択した。この EGF と bFGF は中枢ニューロンに対して神経栄養因子となりうるということが報告されている¹⁾²³⁾²⁴⁾³⁷⁾³⁸⁾。このうち EGF については神経栄養因子として直接ニューロンに働くことが確認されているが²⁵⁾、bFGF についてはグリアを介してニューロンに働くという意見²⁵⁾と、ニューロンに直接働くという意見²⁹⁾³⁷⁾³⁸⁾の2つに分かれる。しかしこのような因子が低酸素性神経細胞傷害に有効かどうかについてはこれまで全く検討されてこなかった。

最近私どもの研究室では EGF と NGF の低酸素性神経細胞傷害に対する影響について検討している。その結果 EGF は大脳皮質ニューロンの一次培養系において、10ng/ml 以上の濃度で低酸素負荷後のニューロンの生存

を有意に延長した。これに対して低酸素負荷を行わない場合には、その効果は10ng/mlでごく軽度認められるだけであった¹²⁾¹⁴⁾¹⁵⁾²⁷⁾ (Fig. 5)。また抗 EGF レセプター抗体を用いて共存培養すると、抗体の濃度依存的にこれらの効果がブロックされた (Fig. 6)。このことから EGF が低酸素性神経細胞傷害に対して生存延長効果を発揮するのはレセプターを介しているものと思われるが、これを明らかにするために培養ニューロンでのレセプターの発現を調べた。その結果 seeding 後1日目に培地を無血清培地に変え、この日を Day 0 とすると、Day 1 には培養ニューロンの約10%にレセプターの発現がみられ、Day 2 で約50%、Day 3 で約70%のニューロンにレセプターの発現が認められた。このことから無酸素負荷をかける Day 3 には多くのニューロンでレセプターが発現されており、レセプターを介した効果と考えることの妥当性が明らかとなった。さらにこのレセプターの

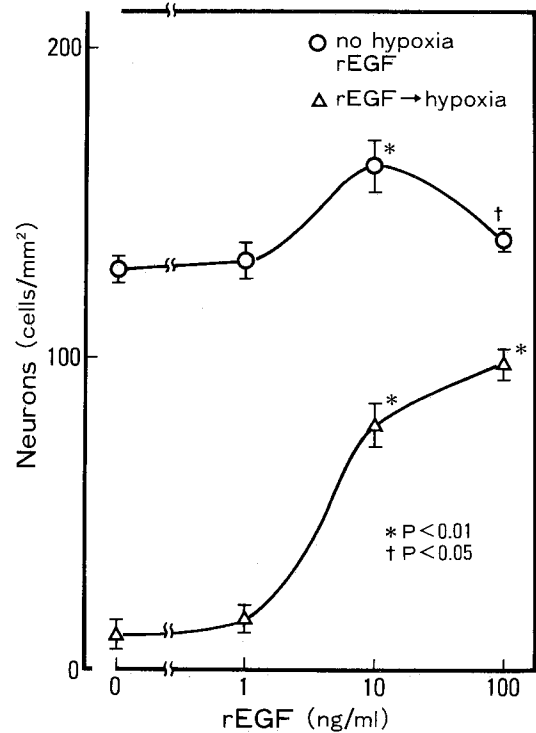


Fig.5 培養皮質ニューロンの低酸素障害に対する EGF の効果。胎性第17日齢のラット大脳皮質ニューロンを培養し24時間後に無血清培地とし、リコンビナント EGF を添加した。さらに5日間培養後生存ニューロン数を計測した。図中△印のカーブは EGF 添加後3日に4時間の低酸素負荷を加えたもの、○印のカーブは低酸素負荷を加えなかったものである。

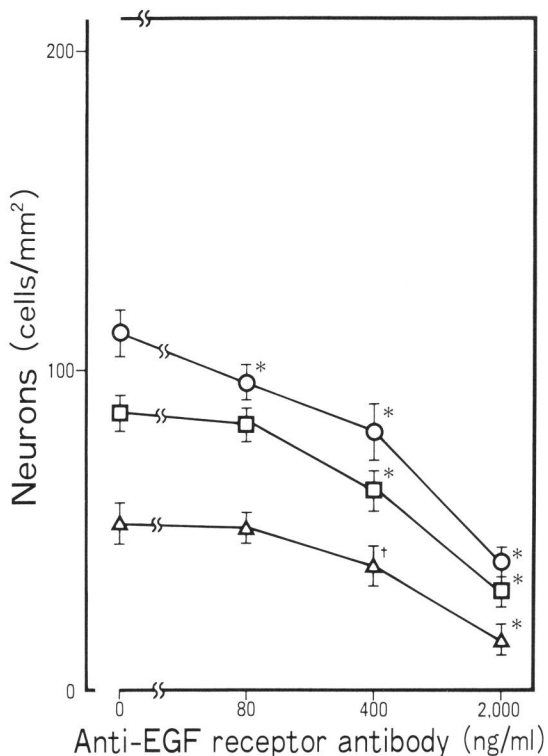


Fig.6 抗 EGF レセプター抗体による中和試験。図 5 と同じ条件で培養し、無血清培地に換えたのち、EGF 10ng/ml と各濃度の抗 EGF レセプター抗体を添加して 5 日間培養したものである。
○：低酸素負荷を行わなかったもの、□：無血清培地に変換直後に低酸素負荷を加えたもの、△：変換後 3 日目に低酸素負荷を加えたもの。* * p < 0.01
* p < 0.05 □

機能を評価するため、receptor binding assay を行うと、EGF を入れないで培養した場合には low affinity binding site だけが発現し、EGF を 10ng/ml 入れて培養した場合には low affinity site のみならず、high affinity site の出現も認められた。このことから EGF が十分に存在する場合には高親和性の EGF レセプターが誘導され、これを介して EGF が低酸素性神経細胞傷害に対して生存延長効果を持つことが推察された。

一方 NGF も中隔野初代培養ニューロンに低酸素負荷を加えた場合生存延長効果を持つことが明らかとなった¹⁶⁾。方法は胎性第17日のラットから実体顕微鏡下に中隔野を取り出し、単細胞化したのち、2-4代継代したグリアシート上で培養した。ニューロン散布の24時間後に無血清培地と交換し、7sNGF を 10-1000ng/ml の濃度で

添加して 3 日間培養した後、4 時間の低酸素負荷を行った。その後さらに 2 日間培養して固定後、100 μm 以上の突起を持つ中隔野ニューロンの数を計数した。また Karnovsky-Roots 法に準じて acetylcholine esterase (AChE) 染色法を行い、中隔野由来コリン作動性ニューロンの無酸素負荷後の生存について形態的に検討した。その結果、低酸素負荷を行わない場合には 100ng/ml の濃度で、ごく軽度の中隔野ニューロンの生存延長効果が認められ、AChE 染色でみられるコリナージックニューロンが NGF 無添加群と比べてやや多い傾向がみられた。これに対して低酸素負荷を行うと、NGF 無添加の場合生存細胞数は負荷を行わなかった場合の約 25% に減少した。これに対し NGF を 1000ng/ml 加えたものでは、あきらかな神経細胞の生存延長効果がみられ、AChE 染色では、無添加例に比べて細胞の大きさ及び細胞数とも保たれた¹⁶⁾ (Fig. 7)。

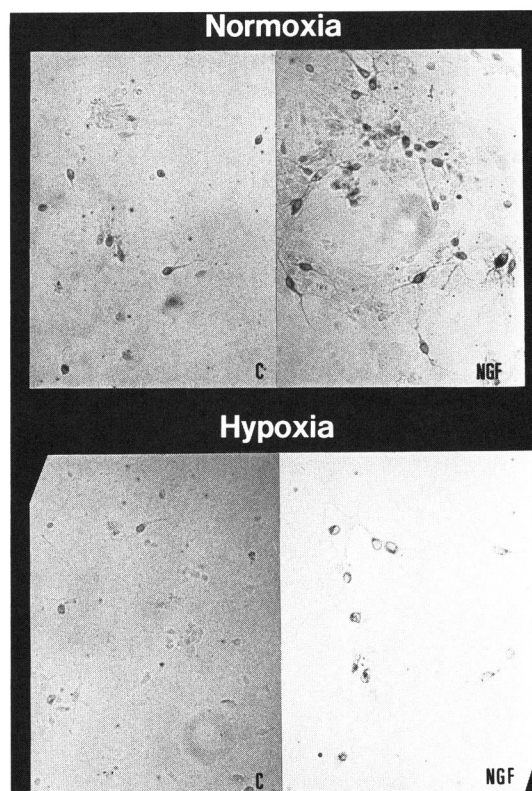


Fig.7 中隔野コリナージックニューロンに対する NGF の生存延長効果と低酸素負荷の影響。通常酸素濃度で培養した場合 NGF (100ng/ml) を添加するとコリナージックニューロンの数は無添加 (C) と比べて明らかに増加する。また低酸素負荷を加えると両群ともコリナージックニューロンの数は減少するが、NGF (1000ng/ml) を添加した方が生存はよい。

このような虚血性神経細胞傷害に対して、神経成長栄養因子が有効に働くメカニズムについてはほとんど解明されていない。われわれが示したように、レセプターの発現および機能の変化をもたらす可能性が示されたが、さらに最近では細胞内情報伝達系に参与する protein kinase C の場所の移動 (translocation) が起こる可能性についても報告されている³⁶⁾。いずれにしてもこのような成長栄養因子の細胞内での働きについては、未だほとんど解明されていないと言わざるを得ないが、虚血性神経細胞傷害の治療に新しい可能性を開きうるものと思われる。

5. 神経成長栄養因子による虚血後の二次変性の改善

虚血性脳損傷の後に神経栄養因子を介してなんらかの積極的な治療を行うかどうかというのは大きなテーマであるが、未だこれに対する確たるデータは出現していない。最近、脳にあらかじめ損傷を加えた後に脳虚血を行うと虚血による細胞障害が防止しえたという報告がみられるようになった。たとえば Takahata³³⁾らはマウスで脳内4ヶ所に刺創を作成し、1週間後に脳虚血を作成すると、刺創を加えなかった群に比べて有意に生存率が延長したと報告している。その理由として著者らは虚血障害を防止するなんらかの因子が産生されたためではないかと推察している。また砂ネズミの海馬に刺創を加えたのちに一過性の前脳虚血を負荷すると、通常みられる遅発性神経細胞壊死が防止できたとの報告もある²⁶⁾。これらの報告から刺創によりなんらかの因子が産生され脳保護的に働くのではないかと推察される。

一方すでに精製されたり合成が可能となっている神経成長栄養因子を用いた脳虚血の治療については未だ全く試みられていない。しかし前述のように NGF が軸索切断後の中枢コリナージックニューロンの逆行変性を防止したり⁹⁾⁴⁰⁾、bFGF¹⁾や ganglioside³⁰⁾³¹⁾にも類似の効果のあることが報告されている。従ってこのような物質を虚血性軸索損傷後の逆行変性の予防に用いるのではないかと考え、私どもはラット中大脳動脈閉塞後の二次的視床萎縮の防止を目的として実験を行った。まずすでに *in vitro* の hypoxia モデルで効果が明らかになっているリコンビナントヒト EGF を最初に試みた。すなわちラットの左中大脳動脈を閉塞直後に osmotic minipump を左側脳室内に設置し、ここから rEGF を 5 μ g/week の速度で側脳室に注入した。しかし現在までのところの

rEGF は副作用が強く、また組織学的にも脳室内の細胞反応が強く、実用に供することはできなかった。

次に試みたのは bFGF である。bFGF はすでに明らかのように培養ニューロンにおいてある種の神経栄養活性を発揮することが明らかになっており、また最近リコンビナントタイプも合成されている¹⁰⁾¹⁹⁾。そこでこのリコンビナントヒト bFGF (武田薬品工業より供与) を虚血性脳損傷の実験的治療に用いた。方法はラット中大脳動脈閉塞モデルを用い、閉塞翌日より bFGF 1 μ g/0.1ml を週1回の間隔で計4回大槽内に注入した。また対照として0.2% rat serumを含む生理食塩水0.1mlを同様に大槽内に注入したものを用いた。その結果 bFGF の大槽内投与は副作用もなく安全に行うことができた。1ヵ月後に灌流固定を行い、海馬-視床レベルで視床後腹側核の萎縮の程度を検討してみると、後腹側核の断面積は生食投与群では対側の75%にまで萎縮しているのに対し、bFGF 投与群では萎縮は対側の93%にとどまった (Fig. 8)。また顕微鏡的観察でも bFGF 群であきらかに溶媒

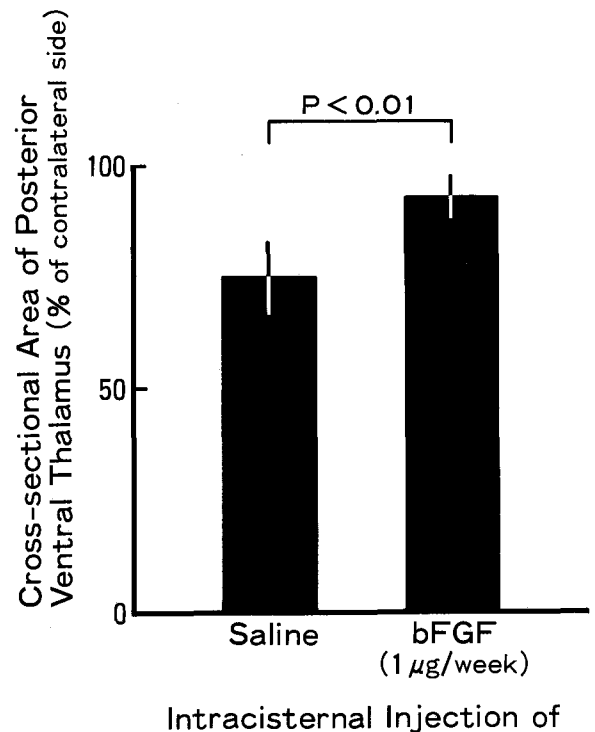


Fig.8 ラット中大脳動脈閉塞4週間後の視床萎縮と bFGF によるその予防。梗塞側視床 VPL 核の断面積を対側と比べて%で表現したもの。

群に比べてニューロンの保存が確かめられた (Fig. 9)。さらにこれを画像解析装置を用いて分析し定量すると、bFGF群で溶媒群と比べて有意な300ピクセル以上の大型

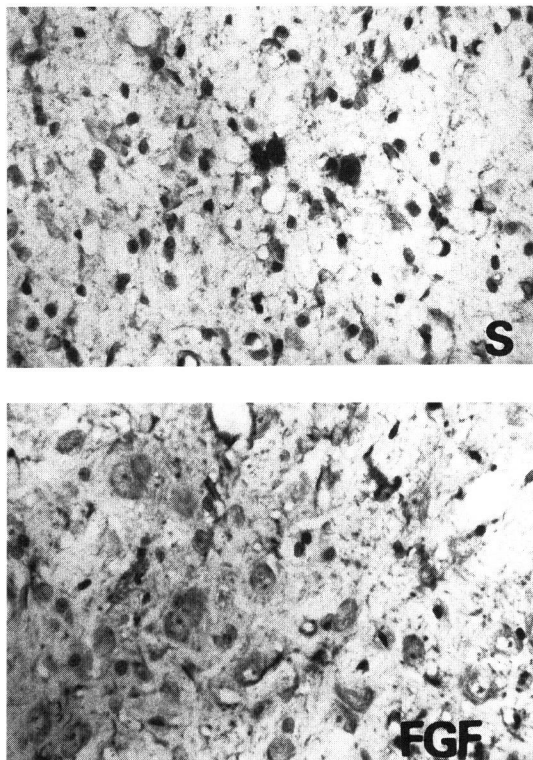


Fig.9 梗塞4週間後の視床 VPL 核の顕微鏡像。(Nissl 染色 ; x200) s : 溶媒投与群、FGF : bFGF 投与群

の細胞の生存が有意に多いことが確かめられた (Fig. 10)。抗 GFAP 抗体による免疫染色では bFGF 投与群で脳槽や側脳室に接する脳組織に GFAP 陽性のグリアが対照群と比して多く認められ、この領域まで bFGF が組織内に浸透したことが推察された。また視床の萎縮部位においても GFAP 陽性のグリア細胞は bFGF 投与群において多い傾向がみられた⁴⁵⁾。したがって、bFGF は GFAP陽性のグリアを介して虚血による2次的な視床萎縮を予防しうることが示唆されるが、今後さらにその作用機序について詳細に検討する必要がある。

6. おわりに

脳虚血と中枢神経系の神経成長栄養因子に関する研究は、いまその端緒についたばかりである。最初にも述べたように、従来の脳虚血研究は虚血巣内の死にゆく運命にあるニューロンの死の過程を研究し過ぎた嫌いがある。しかしこのようなアプローチはことごとく失敗し、

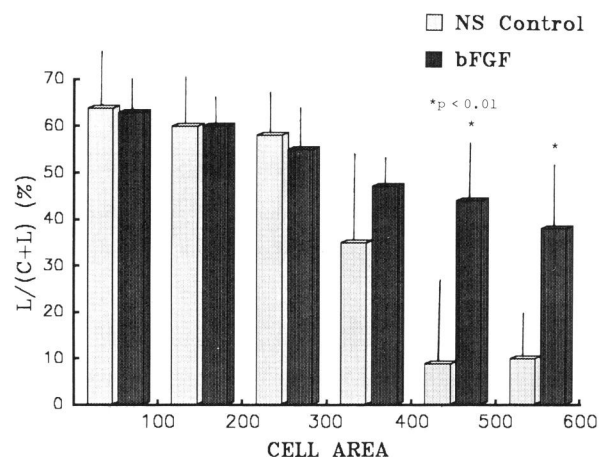


Fig.10 画像解析装置による視床 VPL 核の細胞断面積のヒストグラム

未だに虚血急性期脳損傷に対する的確な治療法は開発されていない。最近になって虚血病巣以外にも、その神経連絡部位に緩徐に神経細胞の変性が起こることが明らかにされた。本稿で述べたように、逆行性変性を中心とするこのような変性は神経栄養因子群で治療しうる可能性がある。また臨床的なニーズからすると、脳血管性痴呆はわが国ではアルツハイマー病と並んで痴呆の2大原因となっており、この予防、治療が愁眉の問題である。この血管性痴呆の原因として虚血後徐々に進行する2次性損傷が重要視されており、神経成長栄養因子をうまく利用することにより、この2次的損傷を予防しうる可能性がある。その意味で、すでに神経成長因子としての作用が明らかとなっている NGF、EGF、bFGF のリコンビナントタイプは、その投与方法を工夫することによって、治療薬として用いうる可能性があり、その将来性が期待されている。

謝辞

本研究は大阪大学脳神経外科、神経科学研究グループの甲村英二、木下 章、田口潤智、坂口健夫、中尾和民、蕨井 武、松本勝美、伊藤 守、鶴園浩一郎、宮脇洋二並びに近畿大学脳神経外科片岡和夫の諸兄との共同研究の結果である。あらためて各位に感謝したい。また指導頂いた大阪大学脳神経外科早川 徹教授に感謝する。本研究で用いたリコンビナント EGF と bFGF はそれぞれアーズ製薬と武田薬品工業より提供頂いたものであり、ここに再度感謝したい。

本研究は文部省科学研究費助成金、並びに厚生省循環器病研究委託費の援助によって行われた。

文 献

- 1) Anderson KJ, Dam D, Lee S, Cotman CW : Basic fibroblast growth factor prevents death of lesioned cholinergic neurons *in vivo*. *Nature* 332 : 369-361, 1988
- 2) Ayer-LeLievre C, Olson L, Ebendal T, Seeiger A, Persson H : Expression of the β -nerve growth factor gene in hippocampal neurons. *Science* 240 : 1339-1341, 1988
- 3) Bueker ED : Implantation of tumors in the hind limb of embryonic chick and developmental response of the lumbosacral nervous system. *Anat Rec* 102 : 369-390, 1948
- 4) Cohen S : Purification and metabolic effects of a nerve growth-promoting protein from snake venom. *Proc Natl Acad Sci USA* 46 : 302-311, 1960
- 5) Cotman CW, Nieto-Sampedro M : Progress in facilitating the recovery of function after central nervous system trauma. *Ann NY Acad Sci* 457 : 83-104, 1985
- 6) Fallon JH, Seroogy KB, Loughlin SE, Morrison RS, Bradshaw RA, Knauer DJ, Cunningham DD : Epidermal growth factor immunoreactive material in the central nervous system : Location and development. *Science* 224 : 1107-1109, 1984
- 7) Finklestein SP, Apostolides PJ, Caday CG, Prosser J, Philips MF, Klagsbrun M : Increased basic fibroblast growth factor (bFGF) immunoreactivity at the site of focal brain wounds. *Brain Res* 460 : 253-259, 1988
- 8) 藤田和貴, 桐野高明, 田村 晃, 岡 秀宗, 佐野圭司 : 局所脳虚血後にみられた視床の変性・萎縮. *医学のあゆみ* 148 : 621-622, 1989
- 9) Hefti F : Nerve growth factor promotes survival of septal cholinergic neurons after fimbrial transections. *J Neurosci* 6 : 2155-2162, 1986
- 10) Iwane M, Kurokawa T, Sasada R, Seno M, Nakagawa S, Igarashi K : Expression of cDNA encoding human basic fibroblast growth factor in *E. coli*. *Biochem Biophys Res Commun* 146 : 470-477, 1987
- 11) Kataoka K, Hayakawa T, Yamada K, Mushiroy T, Kuroda R, Mogami H : Neuronal network disturbance after focal ischemia in rats. *Stroke* 20 : 1226-1235, 1989
- 12) 木下 章, 山田和雄, 早川 徹, 甲村英二, 最上平太郎 : ラット初代培養ニューロン上での EGF receptor の発現とその機能. *神経化学* 28 : 380-381, 1989
- 13) Kinoshita A, Yamada K, Hayakawa T : Hypoxic injury of rat cortical neurons in primary cell cultures : Introduction of the modified method which creates the hypoxic state. *Exp Cell Biol* (in press)
- 14) Kinoshita A, Yamada K, Hayakawa T, Kataoka K, Mushiroy T, Kohmura E, Mogami H : Modification of anoxic neuronal injury by human recombinant epidermal growth factor and its possible mechanism. *J Neurosci Res* 25 : (in press)
- 15) 木下 章, 山田和雄, 早川 徹, 松本勝美, 甲村英二, 片岡和夫, 最上平太郎 : 低酸素性神経細胞傷害に対する上皮成長因子の改善効果, *in vitro* hypoxia model を用いて. *Brain Hypoxia* (印刷中)
- 16) 木下 章, 山田和雄, 早川 徹, 甲村英二, 片岡和夫, 蓮井 武, 最上平太郎 : 神経成長因子による無酸素性神経細胞傷害の改善効果. *in vitro* アノキシアモデルを用いて. *医学のあゆみ* 148 : 487-488, 1989
- 17) Kirino T : Delayed neuronal death in the gerbill hippocampus following ischemia. *Brain Res* 239 : 57-62, 1982
- 18) Korsching S, Heumann R, Thoenen H, Hefti F : Cholinergic denervation of the rat hippocampus by fimbrial transection leads to a transient accumulation of nerve growth factor (NGF) without change in mRNA^{NGF}. *Neurosci Lett* 66 : 175-180, 1986
- 19) Kurokawa T, Sasada R, Iwane M, Igarashi K : Cloning and expression of cDNA encoding human basic fibroblast growth factor. *FEBS Lett* 213 : 189-194, 1987
- 20) Levi-Montalcini R, Hamburger V : Selective growth-stimulation effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo. *J Exp Zool* 116:321-362, 1951
- 21) Levi-Montalcini R : The nerve growth factor 35 years later. *Science* 237:1154-1162, 1987
- 22) Montero CN, Hefti F : Rescue of lesioned septal cholinergic neurons by nerve growth factor : Specificity and requirement of chronic treatment. *J Neurosci* 8 : 2986-2999, 1988
- 23) Morrison RS, Sharma A, de Vellis J, Bradshaw R : Basic fibroblast growth factor supports the survival of cerebral cortical neurons in primary cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 83 : 7537-7541, 1986
- 24) Morrison RS, Kornblum HI, Leslie FM, Bradshaw RA : Trophic stimulation of cultured neurons from neonatal rat brain by epidermal growth factor. *Science* 238 : 72-75, 1987
- 25) Morrison RS, Keating RF, Moskal JR : Basic fibroblast growth factor and epidermal growth factor exert differential trophic on CNS neurons. *J Neurosci Res* 21 : 71-79, 1988
- 26) 蓮井 武, 吉峰俊樹, 早川 徹, 藤田敏晃, 最上平太郎 : 刺傷による海馬遅発性神経細胞死の防止. *医学のあゆみ* 147 : 225-226, 1988
- 27) 蓮井 武, 山田和雄, 早川 徹, 木下 章, 片岡和夫 : ヒト recombinant EGF (rEGF) の神経栄養効果について. *神経化学* 27 : 178-179, 1988
- 28) Nieto-Sampedro M, Lim R, Hicklin DJ, Cotman CW : Early release of gliamaturation factor and acidic fibro-

- last growth factor after rat brain injury. *Neurosci Lett* 86 : 361-365, 1988
- 29) Perraud F, Labourdette G, Miehé M, Loret M, Sensenbrenner M : Comparison of the morphological effects of acidic and basic fibroblast growth factors on rat astroblasts in culture. *J Neurosci Res* 20 : 1-11, 1988
 - 30) Sabel BA, Slavin MD, Stein DG : GM₁ ganglioside treatment facilitates behavioral recovery from bilateral brain damage. *Science* 225 : 340-342, 1984
 - 31) Sofroniew MV, Pearson RCA, Cuellar AC, Tagari PC, Stephens PH : Parenter allyadministered GM₁ ganglioside prevents retrograde degeneration of cholinergic cells of the rat basal forebrain. *Brain Res* 398 : 393-396, 1986
 - 32) 田口潤智, 山田和雄, 早川 徹, 片岡和夫, 甲村英二, 中尾和民, 松本勝美, 最上平太郎, 金井信博 : 局所脳虚血後の軸索傷害とその再生について. 脳梗塞亜急性期ないし慢性期における神経変性傷害の発生機序に関連して. *脳と神経* 41 : 813-818, 1989
 - 33) Takahata Y, Shimoji K : Brain injury improves survival of mice following brain ischemia. *Brain Res* 381 : 368-371, 1986
 - 34) Tamura A, Graham DI, McCulloch J, Teasdale GM : Focal cerebral ischemia in the rat. 2. Regional cerebral blood flow determined by [¹⁴C] iodoantipyrine autoradiography following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metabol* 1 : 61-69, 1981
 - 35) Tamura A, Nakayama H, Kirino T, Tomukai N, Sano K, Kanazawa I : Remote disinhibition hyperemia after focal cerebral ischemia. Tomita M, Sawada H, Naritomi H, Heiss W. -D. (eds) : *Cerebral Hyperemia and Ischemia : From the Standpoint of Cerebral Blood Volume*. Elsevier, New York, 195-206, 1988
 - 36) Vaccarino F, Guidotti A, Costa E : Ganglioside inhibition of glutamate-mediated protein kinase C translocation in primary cultures of cerebral neurons. *Proc Natl Acad Sci* 84 : 8707-8711, 1987
 - 37) Walicke PA, Barid A : Neurotrophic effects of basic and acidic fibroblast growth factor are not mediated through glial cells. *Devel Brain Res* 40 : 71-79, 1988
 - 38) Walicke PA : Basic and acidic fibroblast growth factor have trophic effects on neurons from multiple CNS regions. *J Neurosci* 8 : 2618-2627, 1988
 - 39) Werner MH, Nanney LB, Stoscheck CM, King LE : Localization of immunoreactive epidermal growth factor receptors in human nervous system. *J Histochem Cytochem* 36 : 81-86, 1988
 - 40) Williams LR, Varon S, Peterson GM, Victorin K, Fischer W : Continuous infusion of nerve growth factor prevents basal forebrain neuronal death after fimbrial transection. *Proc Natl Acad Sci USA* 83 : 9231-9235, 1986
 - 41) 山田和雄, 早川 徹, 片岡和夫, 木下 章, 中尾和民, 蕙井 武, 岡崎宏司, 最上平太郎 : 虚血によって誘発される神経栄養因子. *医学のあゆみ* 147 : 561-562, 1988
 - 42) 山田和雄, 早川 徹, 片岡和夫, 木下 章, 蕙井 武, 松本勝美, 岡崎宏司, 最上平太郎 : 脳虚血周囲組織に出現する神経栄養因子の部分精製. *神経化学* 27 : 180-181, 1988
 - 43) 山田和雄, 早川 徹, 片岡和夫, 中尾和民, 蕙井 武, 岡崎宏司, 最上平太郎 : 脳虚血周囲組織に出現する神経栄養因子について. *脳と神経* 41 : 611-616, 1989
 - 44) Yamada K, Hayakawa T, Kinoshita A, Kataoka K, Mushiroi T : Ischemia-induced neurotrophic activity detected in the periinfarcted brain tissue and its partial purification. *J Cereb Blood Flow Metabol* 9 (Suppl 1) : S2, 1989
 - 45) Yamada K, Kinoshita A, Kohmura E, Sakaguchi T, Taguchi J, Kataoka K, Hayakawa T : Basic fibroblast growth factor prevents thalamic degeneration after cortical infarction. *J Cereb Blood Flow Metabol* (in press)