

令和6年度 水俣病研究報告書

研究課題名：神経細胞の再生促進の解析

報告者：

新潟大学脳研究所臨床神経科学部門脳神経内科学分野 金澤雅人

目的：

末梢血単核球（PBMC）を低酸素低糖（OGD）条件下で刺激すると、細胞の性質が変化し、遺伝子レベルでの修飾を伴う形質転換が起こることを示してきた^{1,2)}。OGD 刺激を受けた PBMC（OGD-PBMC）を脳梗塞モデルラットに投与し、神経症状の改善に関与する領域とその作用機序を明らかにすることで、治療応用の可能性を探る。

方法：

1. 脳梗塞モデルの作成および細胞投与

塞栓系法を用いて脳梗塞モデルラットを作成した。さらに、脳梗塞7日後に頸動脈よりヒト由来 OGD-PBMC を投与した。投与3日後（脳梗塞10日後）と21日後（脳梗塞28日後）に、4%パラホルムアルデヒドにて再灌流固定し、脳サンプルを採取した。また、低酸素領域の同定のため、体重1gあたり60 μ gのpimonidazoleをラットの腹腔内に投与した³⁾。

パラフィンブロックを作成し、抗VEGF抗体、抗pimonidazole抗体、及び各種細胞マーカーの免疫組織学的染色による蛍光二重染色を実施した。

2. 細胞移行機序の解析

細胞が脳梗塞病変に移行する機序として、CXCR4-stromal cell-derived factor-1(SDF-1)の系に注目した。細胞走化因子CXCR4の選択的な阻害薬AMD3100 (Sigma-Aldrich, Burlington, MA, USA)を既報同様、細胞投与前後3日間1mg/kg/日の腹腔投与を行った⁴⁾。

結果：

1. OGD-PBMC は低酸素領域に集積する

脳表からの血流エコーではほぼ血流は治療によらず改善していた。脳梗塞モデルラットに OGD-PBMC 投与すると、血管内皮増殖因子 (VEGF) が脳内で発現が増加することを示していた¹⁾。細胞投与 3 日後の標本で、ヒト細胞質特異抗体 (STEM121) 陽性細胞はすべて pimonidazole 陽性領域に存在していた。また PBMC の走化性因子の一つである SDF-1 についても免疫染色を行った。STEM121 陽性細胞はすべて SDF-1 陽性領域に存在し、また SDF-1 陽性領域では SDF-1 陰性領域に比し、pimonidazole の発現が多く認められた ($p < 0.01$)。

OGD-PBMC 投与 21 日後の脳標本において、OGD-PBMC 投与群・対照群双方において VEGF 発現は pimonidazole 陽性領域で亢進していた (各 $p < 0.01$)。また pimonidazole 陽性領域において、対照群に比し OGD-PBMC 投与群で VEGF 発現が亢進した ($p = 0.034$)。虚血辺縁での pimonidazole 陽性細胞数は対照群に比して OGD-PBMC 投与群で減少していた ($p < 0.01$)。

2. CXCR4 阻害により細胞の脳内移行が抑制される

AMD3100 投与で、CXCR4 を阻害したのちに、OGD-PBMC 投与 3 日後の脳標本において、STEM121 陽性細胞数を評価した。AMD3100 投与群では、1 視野あたりの平均 STEM121 陽性細胞数は、対照群と比べて減少していた ($p = 0.018$)。

考察とまとめ：

これまでに、OGD-PBMC を脳梗塞病変に移行し、血管新生や神経軸索進展 (神経再生) を誘導すること、さらに運動感覚機能を回復させることを報告してきた^{1,2)}。しかし、その作用機序はわかっていなかった。

今回、OGD-PBMC が脳梗塞病変部に残存する低酸素領域へ選択的に移行することを示した。また、CXCR4 阻害により OGD-PBMC の移行が阻害されることから、CXCR4/SDF-1 経路が細胞の集積に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

虚血後の血管内治療にて、血流は 90% 程度まで回復するとされるが、症状が改善しない例が半数以上いる⁵⁾。今回の検討で、血流が改善しても低酸素領域が一部で残存することを示した。また、CXCR4/SDF-1 系を介して OGD-PBMC が病変部へ誘導され、その部位で VEGF 発現を促進し、血管新生により、低酸素環境に影響を及ぼす可能性が示唆された。水俣病モデル動物では、病変部に VEGF が高発現していることを示している。VEGF が CXCR/SDF-1 を誘導することも報告されている⁶⁾。水俣病においても、CXCR/SDF-1 の発現が増加してい

ることの証明は必要であるが、**OGD-PBMC** が病変部に集積する可能性がある。細胞療法成功には、投与細胞の保護的特性と病変部への適切な集積が不可欠である。本研究で、**OGD-PBMC** がこれらの条件を満たすことが確認された⁷⁾。

今回の研究は、**OGD-PBMC** が脳内病変に作用して、神経再生を促進する可能性を支持するものである。さらなる検討が必要であるが、水俣病への治療応用の可能性も示唆される。今後の水俣病治療への応用も期待される。

文献

- 1) Hatakeyama M, Kanazawa M, Ninomiya I, et al. A novel therapeutic approach using peripheral blood mononuclear cells preconditioned by oxygen-glucose deprivation. *Sci Rep* 2019; 9: 16819.
- 2) Otsu Y, Hatakeyama M, Kanayama T, et al. Oxygen-Glucose Deprived Peripheral Blood Mononuclear Cells Protect Against Ischemic Stroke. *Neurotherapeutics*. 2023; 20: 1369-1387.
- 3) Noto T, Furuichi Y, Ishiye M, et al. Temporal and topographic profiles of tissue hypoxia following transient focal cerebral ischemia in rats. *J Vet Med Sci* 2006; 68: 803-807.
- 4) Walter HL, van der Maten G, Antunes AR, et al. Treatment with AMD3100 attenuates the microglial response and improves outcome after experimental stroke. *J. Neuroinflammation*. 2015; 12: 24.
- 5) RESCUE BT Trial Investigators; Qiu Z, Li F, Sang H, et al. Effect of Intravenous Tirofiban vs Placebo Before Endovascular Thrombectomy on Functional Outcomes in Large Vessel Occlusion Stroke: The RESCUE BT Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2022; 328: 543-553.

- 6) Hong X, Jiang F, Kalkanis SN, et al. SDF-1 and CXCR4 are up-regulated by VEGF and contribute to glioma cell invasion. *Cancer Lett.* 2006; 236: 39-45.
- 7) Kanayama T, Hatakeyama M, Akiyama N, et al. Oxygen-glucose-deprived peripheral blood mononuclear cells act on hypoxic lesions after ischemia-reperfusion injury. *Exp Neurol.* 2025; 385: 115121.

水俣病、緑内障患者の quality of vision(QOV)スコアの経時変化

新潟大学大学院医歯学総合研究科眼科学分野

福地健郎

<はじめに>

我々は第74回日本臨床眼科学会(2020)で、アンケートによる生活の質(quality of life: QOL)及び視覚の質(quality of vision: QOV)のスコアが視野パラメータや視力と関連することを報告した。緑内障診療ガイドライン第5版では緑内障治療の目的は患者のQOVと、それに伴うQOLを維持することであると明記されている。しかし、緑内障患者のアンケートによるQOVの推移を追った研究はなく、臨床にどう生かすのかは現在の課題である。QOVスコアの経時変化を調べ、どのような因子がQOVの低下に影響しているのかが明らかになれば、現在の日常診療での評価対象である視野や視力以外のQOVという観点から患者の状態を評価できるようになる可能性がある。

<目的と方法>

本研究では水俣病、緑内障患者を対象にQOVを評価する自己記入式アンケートNEI VFQ-25(The 25-item National Eye Institute Visual Function Questionnaire)を行い、スコア化した値を以前(3-4年前)施行した同アンケートの結果と比較し、経時変化を調査した。また、スコア変化に影響する要因を考察した。

まずVFQ-25から総合得点(12の下位尺度のうち、「一般的健康感」、「運転」、「色覚」、「周辺視野」、「目の痛み」を除いたもの)を算出した。1、2回目の総合得点の差から標準偏差(SD)を算出し、総合得点の差が \pm SDの群を「不変群」、SDより大きい群を「上昇群」、-SDよりも小さい群を「下降群」に分類した。また期間内にトラベクトミーを施行した群、白内障手術を施行した群、手術を施行しなかった群に分類し、それぞれの群で視野指標や視力に変化があるのかを検討した。直近のハンフリー視野計(HFA)24-2平均偏差(MD)をもとにBetter eye(BE),Worse eye(WE)に分類した。統計には対応のあるt検定とウィルコクソン符号付順位和検定を用いた。

<対象>

新潟大学医歯学総合病院眼科通院中で、研究への同意が得られた水俣病または広義・原発開放隅角緑内障(POAG)患者159名(男性82名、女性77名)を対象とした。平均年齢は 62.7 ± 10.7 歳であった。ハンフリー視野計、測定モード24-2(HFA24-2)のMDはbetter

eye が -9.8 ± 7.5 dB、worse eye が -16.1 ± 7.3 dB、10-2 の MD は better eye が -9.4 ± 8.3 、worse eye が -14.7 ± 8.7 dB であった。眼軸が28mm を超えるような強度近視や緑内障以外の視力、視野に影響する可能性のある疾患を有する患者は除外した。また1回目から2回目のアンケート実施期間に緑内障と白内障以外の手術を施行した患者、網膜疾患等の視機能に影響を及ぼす疾患を新たに発症した患者は除外した。

<結果>

横軸を1回目のスコア、縦軸を2回目のスコアとした散布図を図1に示す。上昇群10人、不変112人、下降群37人であった。3群間における視野指標の比較を図2に示す。下降群の2回目 WE HFA10-2MD が有意に低かったが、それ以外では有意差を認めなかった。各群における視野指標、視力の変化を図3に示す。不変群でも視野指標、視力は有意に悪化していたが、下降群の方がその傾向が強かった。

トラベクトミー施行群のスコアおよび視野指標、視力の変化を図4に示す。スコア下降群に分類される割合が多く、BE 中心窩閾値と BE logMAR 視力以外で有意な悪化を認めた。白内障手術施行群のスコアおよび視野指標、視力の変化を図5に示す。WE HFA24-2MD、HFA24-2 VFI、WE HFA10-2 MD で有意な悪化を認めた。スコアの平均点は上昇していたものの、有意差はなかった。非手術群とトラベクトミー群の比較を図6に示す。手術群の方が視野指標、視力が有意に悪く、術後の QOV スコアに大きな差を認めた。

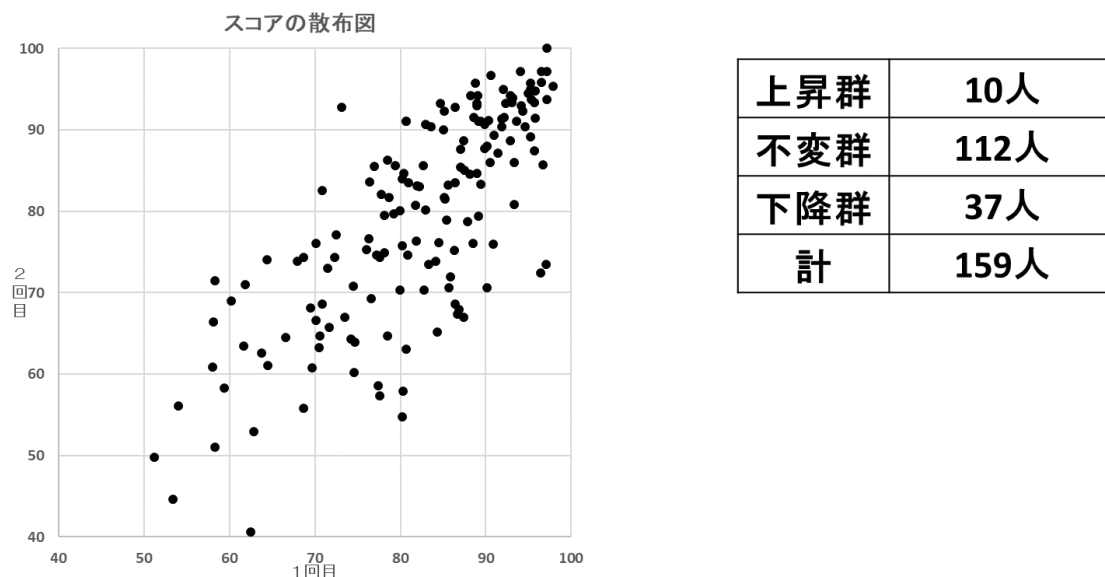


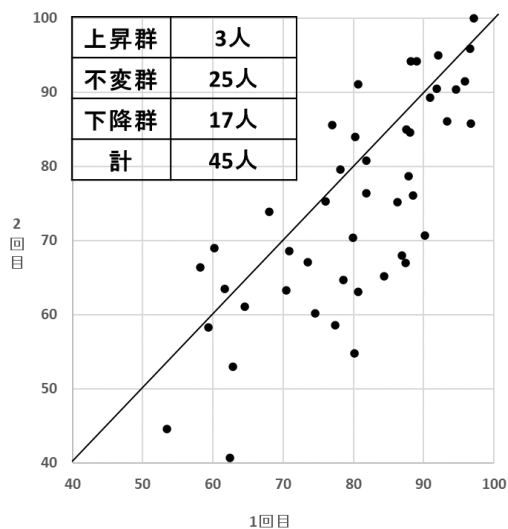
図1 横軸を1回目のスコア、縦軸を2回目のスコアとした散布図

	上昇群(n=10)	不変群(n=112)	下降群(n=37)	P値(不変群と下降群)
性別(男/女)	6/4	58/54	18/19	0.15
年齢(歳)	63.60	62.63	62.78	0.93
1回目BE HFA24-2MD (dB)	-9.44	-8.90	-9.49	0.90
1回目WE HFA24-2MD (dB)	-14.91	-14.89	-14.38	0.93
2回目BE HFA24-2MD (dB)	-9.75	-9.50	-10.71	0.70
2回目WE HFA24-2MD (dB)	-15.25	-16.05	-16.49	0.88
1回目BE HFA10-2MD (dB)	-7.80	-7.87	-9.36	0.59
1回目WE HFA10-2MD (dB)	-12.78	-13.16	-15.49	0.30
2回目BE HFA10-2MD (dB)	-10.33	-8.79	-11.16	0.30
2回目WE HFA10-2MD (dB)	-14.09	-13.62	-17.96	0.03
1回目BE logMAR視力	-0.025	-0.052	-0.011	0.21
1回目WE logMAR視力	-0.016	-0.017	0.012	0.68
2回目BE logMAR視力	-0.043	-0.020	0.074	0.09
2回目WE logMAR視力	-0.001	0.016	0.100	0.09

図2 上昇群、不変群、下降群の3群比較

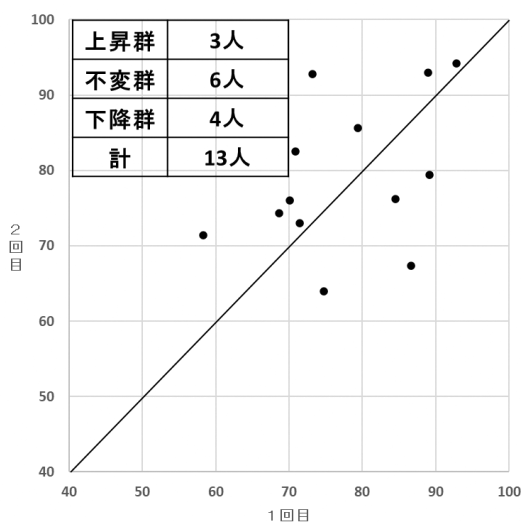
<上昇群 n=10>				<不変群 n=112>				<下降群 n=37>			
	1回目	2回目	P値		1回目	2回目	P値		1回目	2回目	P値
BE HFA24-2 MD	-9.44	-9.75	0.56	BE HFA24-2 MD	-8.90	-9.50	P<0.01	BE HFA24-2 MD	-9.49	-10.71	P<0.01
WE HFA24-2 MD	-14.91	-15.25	0.29	WE HFA24-2 MD	-14.89	-16.05	P<0.01	WE HFA24-2 MD	-14.38	-16.49	P<0.01
BE HFA24-2 VFI	74.10	72.80	0.23	BE HFA24-2 VFI	74.39	71.51	P<0.01	BE HFA24-2 VFI	73.03	68.22	P<0.01
WE HFA24-2 VFI	59.20	55.30	0.04	WE HFA24-2 VFI	56.71	52.44	P<0.01	WE HFA24-2 VFI	57.68	49.76	P<0.01
BE HFA10-2 MD	-7.80	-10.33	P<0.01	BE HFA10-2 MD	-7.87	-8.79	P<0.01	BE HFA10-2 MD	-9.36	-11.16	P<0.01
WE HFA10-2 MD	-12.78	-14.09	0.07	WE HFA10-2 MD	-13.16	-13.62	P<0.01	WE HFA10-2 MD	-15.49	-17.96	P<0.01
BE 中心窩閾値	34.80	33.50	0.04	BE 中心窩閾値	34.66	34.34	0.45	BE 中心窩閾値	32.87	32.46	0.90
WE 中心窩閾値	32.90	31.60	0.31	WE 中心窩閾値	33.81	32.91	0.43	WE 中心窩閾値	31.81	29.18	0.015
BE logMAR視力	-0.025	-0.043	0.32	BE logMAR視力	-0.052	-0.020	P<0.01	BE logMAR視力	-0.011	0.074	P<0.01
WE logMAR視力	-0.016	-0.001	0.34	WE logMAR視力	-0.017	0.016	P<0.01	WE logMAR視力	0.012	0.104	P<0.01
スコア	71.18	82.16	P<0.01	スコア	83.16	83.04	0.57	スコア	82.31	67.51	P<0.01

図3 各群における視野指標、視力の変化



	1回目	2回目	P値
BE HFA24-2 MD	-10.51	-11.62	P<0.01
WE HFA24-2 MD	-18.51	-20.40	P<0.01
BE HFA24-2 VFI	70.80	66.56	P<0.01
WE HFA24-2 VFI	47.09	40.11	P<0.01
BE HFA10-2 MD	-9.57	-10.80	0.02
WE HFA10-2 MD	-14.99	-16.62	P<0.01
BE 中心窩閾値	33.86	32.67	0.19
WE 中心窩閾値	33.36	31.33	0.04
BE logMAR視力	-0.049	0.008	0.14
WE logMAR視力	-0.031	0.079	P<0.01
スコア	80.13	74.57	P<0.01

図4 トラベクレクトミー施行群のスコアおよび視野指標、視力の変化



	1回目	2回目	P値
BE HFA24-2 MD	-9.48	-10.22	0.06
WE HFA24-2 MD	-15.67	-16.88	0.04
BE HFA24-2 VFI	71.31	67.54	0.03
WE HFA24-2 VFI	56.46	50.15	P<0.01
BE HFA10-2 MD	-9.99	-12.15	0.07
WE HFA10-2 MD	-12.04	-14.80	0.01
BE 中心窩閾値	33.33	31.15	0.18
WE 中心窩閾値	33.64	32.46	0.57
BE logMAR視力	-0.0062	0.036	0.12
WE logMAR視力	-0.057	-0.036	0.37
スコア	77.60	79.21	0.61

図5 白内障手術施行群のスコアおよび視野指標、視力の変化

	非手術群 1回目	レクトミー群 1回目	P値	非手術群 2回目	レクトミー群 2回目	P値
BE HFA24-2MD (dB)	-7.64	-10.51	0.03	-8.02	-11.62	P<0.01
WE HFA24-2MD (dB)	-12.63	-18.51	P<0.01	-13.62	-20.40	P<0.01
BE HFA24-2 VFI (dB)	78.38	70.80	0.04	76.04	66.56	0.01
WE HFA24-2 VFI (dB)	63.04	47.09	P<0.01	59.60	40.11	P<0.01
BE HFA10-2MD (dB)	-6.34	-9.57	0.01	-7.64	-10.80	0.02
WE HFA10-2MD (dB)	-11.81	-14.99	0.02	-12.75	-16.62	P<0.01
BE 中心窩閾値	35.17	33.86	0.02	35.42	32.67	P<0.01
WE 中心窩閾値	34.33	33.36	0.14	34.28	31.33	P<0.01
BE logMAR視力	-0.061	-0.049	0.45	-0.041	0.008	0.13
WE logMAR視力	-0.034	-0.031	0.91	-0.013	0.079	P<0.01
スコア	84.80	80.13	0.02	82.99	74.57	P<0.01

図6 非手術群とトラベクレクトミー群の比較

<考察と今後の課題>

スコア不変群では、中心窩閾値を除き、視野・視力の全ての指標で有意に悪化していた。スコア下降群では、不変群で有意な悪化がみられた指標に加え、WE 中心窩閾値も有意に悪化していた。よってスコア下降群ほど多くの視野指標、視力が悪化していた。3群間比較では、スコア下降群の2回目のWE HFA10-2MDが有意に低かった。中心10度内視野の悪化はQOV低下の要因となる可能性が示唆された。非手術群でもスコアは有意に下降(84.8→83.0)していたが、トラベクレクトミー施行群はスコアがより大きく下降しており(80.1→74.6)、BE 中心窩閾値と視力を除く全ての視野指標、視力が有意に悪化していた。これは手術でQOVが低下した可能性、QOVの悪化している症例にレクトミーを施行した可能性の両方が考えられる。白内障手術施行群の平均スコアは上昇していたものの、有意な差ではなかった。対象者数が少なかったことも主因と考えられる。

手術を勧める際の指標として、患者の自覚は重要と考えられるが、手術によって下降する可能性も考慮しなければならないため更なる検討が必要である。日常診療でQOVという観点から患者の状態を評価できる方法を確立できるよう研究を継続したい。より研究を進展させ、これらが経過観察に使える指標、データの1つとなれば、水俣病、緑内障治療の一助となる可能性がある。

令和 6 年度水俣病研究事業

研究者 堀井 新（新潟大学大学院医歯学総合研究科耳鼻咽喉科頭頸部外科学分野教授）

研究協力者 植木雄志（同准教授）

研究要旨①

聴覚伝導路を用いた感覚代行システム開発と平衡リハビリトレーニングプログラムの作成

A) 研究目的：

感覚代行とは、失われた感覚機能を他の残された感覚受容体や感覚伝達系で代替する画期的な医工連携技術である。聴覚伝導路を用いた感覚代行システムは、体平衡センサーで得られた平衡情報をヘッドホンやイヤホンから音情報として出力し、前庭機能低下した患者に平衡情報を前庭神経以外の経路で伝達する。われわれは感覚代行システム機器を実用化し、それらを用いて新たな平衡リハビリテーションプログラムを構築したい。

B) 研究方法：

長岡技術科学大学工学部助教、和田森 直先生と連携し、感覚代行機器、新たな平衡機能検査機器、めまい管理アプリなどを開発し、これらを用いて正常ボランティア、PPPD など慢性めまい疾患患者を対象に、感覚代行装置の装着の有無、リハビリテーション治療の有無による平衡機能検査所見、めまいの自覚症状を比較し、その治療効果を検討する。

C) 研究結果

新規平衡機能検査フォースプレートにより、動的平衡を構成する平衡維持の入力、出力、剛性を分離して解析することが可能となった。健常者 25 例、当科で PPPD と診断された患者 21 例で比較したところ、PPPD は正常に比べ、前後方向では COM 変位の相違を認めず、COM 加速度、Grad は有意に高く、左右方向では COM 変位、加速度ともに大きく、Grad は有意差を認めなかった。また、同様の測定をトレーニングなしの感覚代行機器装着の有無で比較すると、前後左右ともに COM 変位、加速度、Grad に有意差を認めなかった。単回の装着ではなく、自宅で数週間の感覚代行トレーニングを行い、その効果を比較検討する準備、機器の安定性や操作性の改良、また日々の自覚症状を記録するめまい日記アプリ作成を行った。

D) 考察・まとめ

本研究により、これまで難治とされてきた慢性めまいに対する新規治療開発の礎となるともに、慢性めまいのメカニズム解明に寄与し、水俣病あるいは水俣病の鑑別診断や治療に資する知見に繋がり、高齢化の進む水俣病患者の健康対策に資すると考えている。

研究要旨②

慢性めまい患者の立位時関節戦略の解明

A) 研究目的：

メチル水銀中毒による平衡障害は慢性のふらつきを訴える。一般に、3か月以上ふらつきが持続する慢性めまい患者は、立位時の重心動揺面積が大きいことが知られているが、具体的にどのような姿勢制御機構が働いているのかは不明である。通常姿勢を安定させるためには、足関節と股関節が連動して適切な頭の位置を保つ必要がある。慢性めまい患者では、足関節と股関節の連動が取れていない可能性が指摘されており、頭部慣性センサーを重心動揺計と併用することで、姿勢制御における関節戦略の詳細を解明する。

B) 研究方法：

当科通院中の慢性めまい患者に対して、外来受診時に頭部慣性センサーを装着してもらい、重心動揺計測を行う。具体的には、柔らかいヘッドバンドで頭部に慣性センサーを固定し、重心動揺計の上に1分間起立してもらう。頭部慣性センサーで計測した頭部の動きと、重心動揺計で計測した身体質量中心の動きが、どのような関係性にあるかを評価することで、姿勢制御が足関節主体なのかあるいは股関節主体なのかを解析する。

C) 研究結果

当科を受診した慢性めまい患者40名に対して、頭部慣性センサーを併用した重心動揺計測を行った。慢性めまい患者では、股関節を使わずに足関節のみで立位を保持しようとする姿勢制御がみられ、すなわち立位の際に身体を一本の棒のように固くした、剛性の高い姿勢制御を行っている可能性が示唆された。

D) 考察・まとめ

今回頭部慣性センサーを併用した重心動揺計測を行うことで、慢性めまい患者が足関節主体の姿勢制御戦略をとっていることが明らかとなった。今後は、股関節も使用した姿勢制御戦略を導入するための治療法を開発することで、難渋する慢性めまい疾患の治療において新たな道が拓かれ、水俣病患者に対しても利につながるものと考えられる。