

## 研究課題別 事後評価結果

1. **研究課題名:** 遅発性神経細胞死後の海馬神経細胞の再生

2. **研究代表者:** 桐野 高明 (国立国際成育医療センター研究所 所長)

### 3. 研究内容及び成果

本研究は、再生した海馬CA1領域の神経組織の機能や、再生のための最適条件等を明らかにすることを旨とした。

その結果、以下の成果を得た。

#### 1) 脳虚血後の線条体での神経再生の解析

治療原理の普遍性の確認に関して、まず海馬以外の領域で虚血後神経再生がなされるか否かを検討した。実験モデルとして、線条体での神経細胞死が生じるラット前脳虚血モデルを開発し、脳虚血後の線条体での神経再生の検討を行った。その結果、海馬同様に、成長因子EGFとFGF-2の虚血後投与で、約15%の神経が再生するという他の報告をはるかに凌駕する成果を得た。組織学的検討でも側脳室壁近傍に存在する神経前駆細胞から損傷部位に遊走して神経細胞へと成熟して行く過程を実証することが出来た。一方、単一再生神経細胞の電気生理学的研究は従来ほとんどなされていなかったが、研究代表者らはPatch-clamp法にて再生神経細胞の特性を検討し、電気生理学的成熟過程も捉えることが出来た。このことから、海馬CA1領域で示された基本原理が線条体でも応用可能であることが証明された。

#### 2) 年齢による再生能力の差異の解析

脳虚血は臨床的には高齢者に多いため、再生能力の年齢依存性を検討した。キノリン酸を線条体に直接注入して神経細胞を破壊するハンチントン病モデルで検討した結果、高齢ラットでも成長因子投与により有意な神経再生を得ることが出来た。行動解析の結果で、治療群で明らかな効果を認めたことから、高齢であっても本治療原理が応用可能であることが示された。

#### 3) 前脳虚血後の海馬神経再生の至適条件の解明

様々な成長因子について虚血後神経再生の検討を幹細胞増殖能を指標に行ったところ、海馬、側脳室、第3脳室のいずれにおいても、EGFとFGF-2の混合治療が最も有効であることが示された。特記すべきは、今まで注目されていなかった第3脳室壁にも虚血後治療に反応する幹細胞が存在し、視床等で神経再生が起こる可能性が出てきたことである。また、成長因子投与に加えて、Notch signaling 因子によって神経分化過程を修飾することにより、さらに効率良い再生療法が可能であることも示した。

#### 4) 内在性神経幹細胞による神経再生の分子機構の解明

分子機構の研究では、まず局所的再生能の部位特異性に着目した。前脳虚血モデルで海馬CA1領域の神経再生が誘導可能であるにもかかわらず、大脳皮質では再生していない。両者の神経幹細胞はin vitroでの挙動に差はないことから、両部位の遺伝子発現を解析したところ、IGF-1とBMPの発現に大きな差を認め、この両者を皮質に注入することで再生誘導が可能となった。また、脳実質内にも神経幹細胞が存在するが、その増殖分化が周囲環境によって生理的に抑制されていることがわかった。これらの幹細胞は、脳虚血、成長因子投与、さらには神経分化促進因子Neurogenin 2の強制発現によって損傷脳での神経再生に寄与し得ることも明らかになった。内在性神経幹細胞からの再生療法には、部位特異性があることは広く知られているが、これらの知見を組み合わせることでその応用の可能性はさらに広がっていくと思われる。

上記のように、内在性神経幹細胞を用いた虚血後脳における神経再生療法の開発を目指して研究を進めた。その結果、海馬および線条体で神経細胞新生があること、成長因子の投与により神経細胞新生の増強が出来ること、虚血脳が機能的にも改善されることを証明し、将来の臨床応用へ向け有望な道を切り開いた。

#### **4. 事後評価結果**

##### **4 - 1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況**

Cell、Nature Cell Biology等のインパクトファクターの高い国際誌で発表されている。また、海外招待講演や、口頭発表、ポスター発表といった国際学会での発表等を積極的に行った点は評価出来る。

ラットの前脳虚血モデルを開発し、さらに線条体の遅発性神経細胞死のモデルを構築した。そのモデルを用いて、神経細胞新生が生じていること、成長因子の投与により機能的にも改善が見られることを証明し、今後の移植、再生治療の可能性を示唆する重要な成果を上げた。

##### **4 - 2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献**

脳虚血における遅発性神経細胞死の発見、そのアポトーシスによる分子機構の解明等の研究成果を上げた。さらに、国際的に見て極めて重要な課題である脳虚血治療を目指した。内在神経幹細胞・前駆細胞から神経細胞を再生する治療法は極めて重要である。

内在性の神経細胞新生を発見したこと、海馬のみならず線条体の神経細胞新生も証明出来たこと、神経成長因子等によって神経細胞新生を調節出来ることを示す等、科学的インパクトは極めて大きい。

##### **4 - 3. その他の特記事項(受賞歴等)**

なし