

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19300132

研究課題名（和文）脳内神経幹細胞の分化誘導によるパーキンソン病新規治療法の開発

研究課題名（英文）Development of a new regenerative treatment for Parkinson disease by way of inducing proliferation and differentiation of neural stem cells in situ

研究代表者

坂口 和成（SAKAGUCHI KAZUSHIGE）

和歌山県立医科大学・先端医学研究所・教授

研究者番号：60178548

研究代表者の専門分野：分子医学

科研費の分科・細目：神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード：パーキンソン病、神経幹細胞、再生医療

1. 研究計画の概要

パーキンソン病の再生医療のために、脳室下層神経幹細胞を増殖させ、線条体内に遊走させ、ドパミン作動性神経細胞に分化させる薬剤を脳室内に注入する治療法の開発を目標とする。私どものこれまでのマウスおよびラットの実験から、**ephrin-A1 (+/-) FGF2** の脳室内注入がこのような作用をもつことを発見した。脳室下層から線条体への遊走経路はこれまでに発見されたものとは異なるため、細胞の遊走が真に脳室下層からかどうかの証明を要する。**Ephrin-A1** の多量体化は必須であるため、この多量体化を促進する分子を組み換えにて付加することにより融合産物として作製することとした。また、今回の計画では、下等動物のみではなく、マーモセットでも同じ効果があることを組織学および行動学的に調べる。

2. 研究の進捗状況

私どもは **FGF** 受容体のシグナル伝達に関する基礎研究を基盤とし、これまでに **ephrin/Eph** 系と **FGF** 受容体の相互作用によるシグナル伝達が神経幹細胞の増殖、分化および遊走に重要な働きをするかどうかについて研究を進めてきた。このシグナルを神経幹細胞の分化および増殖に利用して内在性神経幹細胞を増殖させ、損傷部位に遊走させ、そこで分化させることにより神経変性疾患を治療しようとするのが今回の主な研究目的である。これまでに、培養神経幹細胞を用いた **in vitro** の実験では、神経幹細胞の増殖および分化に関する分子レベルでの研究を完了している。また、マウスおよびパーキンソンモデルラットにおける **in vivo** の研究では、**ephrin-A1** 重合体を神経幹細胞が内在す

る脳室下層に近い側脳室に注入することにより、脳室下層で幹細胞を増殖させ、神経幹細胞を線条体まで遊走させ、ドパミン作動性神経細胞への分化を誘導させることができることも発見している。この分化誘導により、動物の行動も改善される。これらの研究成果をさらに高等動物で応用することが可能かをマーモセットで調べている。これまでにパーキンソンモデルマーモセットを **MPTP** 筋注により作製し、重合化 **ephrin-A1** を側脳室および線条体に注入した。その前後で運動量を **Supermex** により解析すると、**ephrin-A1** 注入群では注入5週間後には明確に効果的であることが証明できた。組み換え **ephrin-A1** に関しても種々の重合化分子を作製して調べたが、従来の **ephrin-A1-Fc** を抗 **IgG(Fc)** 抗体で重合化した製剤より優れているとは言えない状態であった。ラットおよびマーモセットの組織学的な解析はまだ完了できていない状態であり、今後も継続研究を必要とする。

3. 現在までの達成度

③やや遅れている。総合的に考えると、**75%** の達成度である。パーキンソンモデルマーモセットの作製が順調に進まず、個体の喪失も数件有り、手間取ったためである。ラットおよびマーモセットの組織学的解析は今後も継続する必要がある。

4. 今後の研究の推進方策

マウスおよびラットのデータを出版することを第一の目標とする。パーキンソンモデルラットおよびマーモセットにおいてはさらに組織学的な解析が必要である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Takahiro Sawada, Xuefeng Jing, Yueqiang Zhang, Emi Shimada, Hideyuki Yokote, Masayasu Miyajima, and Kazushige Sakaguchi Ternary complex formation of EphA4, FGFR and FRS2 α plays an important role in the proliferation of embryonic neural stem/progenitor cells. Genes Cells 15: 297-311, 2010 査読有
- ② Yueqiang Zhang, Takahiro Sawada, Xuefeng Jing, Hideyuki Yokote, Xiaomei Yan, and Kazushige Sakaguchi. Regulation of Ephexin1, a Guanine Nucleotide Exchange Factor of Rho Family GTPases, by Fibroblast Growth Factor Receptor-mediated Tyrosine Phosphorylation. J Biol Chem 282:31103-31112, 2007 査読有

[学会発表] (計2件)

- ① 京 雪楓 三輪英人 澤田貴宏 横手秀行 村垣泰光 中西一郎 近藤智善 宮嶋正康 坂口和成
Ephrin-A1-mediated transformation of the subventricular neural stem cell niche leading to dopaminergic neurogenesis in the dopamine-depleted striatum. 第32回日本分子生物学会年会 2009年12月10日 横浜
- ② 澤田貴宏, 京 雪楓, 横手秀行, 張月強, 島田栄美, 坂口和成
Eph-FGFR-FRS2 α の複合体を介するシグナル伝達 第81回日本生化学会大会合同大会 (BMB2008) 平成20年12月8日 神戸

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

①名称: 中枢神経障害治療剤および中枢神経障害の治療方法

発明者: 坂口和成、京 雪楓、澤田貴宏、三輪英人

権利者: 坂口和成

種類: PCT 出願

番号: PCT0711601

出願年月日: 平成20年2月1日

国内外の別: 国内および国外