

機関番号：20101

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20390388

研究課題名 (和文) 亜急性期の脳梗塞に対する遺伝子組換え骨髄幹細胞移植の検討

研究課題名 (英文) Therapeutic benefits of the genetically-engineering mesenchymal stem cells for acute cerebral ischemia

研究代表者 本望 修 (HONMOU OSAMU)

札幌医科大学・神経再生医学講座・特任教授

研究者番号：90285007

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：①移植・再生医療②再生医学③神経科学④脳・神経⑤発生・分化

### 1. 研究計画の概要

従来、“脳梗塞亜急性期における梗塞巣の損傷は完成してしまっており、既に不可逆的損傷を負ってしまっている、”と考えられていた梗塞巣が、実は、不可逆的変化に陥っていない脳組織が残存しており、治療の介入の余地が残されていることが推測されていた。

本研究では、亜急性期の脳梗塞巣における病態生理を解析し、細胞治療による治療メカニズムを検討することで、新しい治療戦略を考案することを主目的としている。

### 2. 研究の進捗状況

#### (1) 脳梗塞巣の病態解析：

脳梗塞亜急性期における梗塞巣の病態生理の解明を一から見直し、脳梗塞巣および周囲脳組織について、画像診断学的所見と組織学的所見との比較解析を行った。その結果、脳梗塞の後、MRI の T2WI や DWI で認められる high intensity area は、従来の常識と比べても長期間に渡って不可逆性変化に陥っているのではないことが判明した。さらには、それらの領域は、幹細胞治療することで、ダメージを最小限に軽減することが可能であることが判明した。

また、血液脳関門 (BBB) の開閉状態を経時的に解析すると同時に、静脈内に移植された細胞が血管内から脳実質内へ移行するホーミング作用を検討したところ、BBB の損傷程度とホーミング効果との相関関係は少なく、急性期から慢性期に渡って良好に脳梗塞巣に移植細胞が集積することが判明した。これらのことから、脳梗塞亜急性期～慢性期においても、静脈内に細胞を投与することで、移植細胞を高率に病巣へ送り込ませることができることが判明した。

(2) 幹細胞治療による作用メカニズムの解析：

移植した幹細胞が治療効果を発揮する機序について、神経栄養作用の観点から解析した結果、脳梗塞の亜急性期であっても、神経栄養作用が働き、尚且つ、ある程度の治療効果が期待できることが判明した。この事実は、従来、想像すらできなかったもので、今後の脳梗塞治療戦略を根本から覆す知見であると思われる。

この神経栄養作用の作用を更に詳しく解析するために、下記の実験を行った。すなわち、脳虚血負荷につづく2次損傷のメカニズムとして、delayed neural death (apoptosis)がある。一過性脳虚血後に海馬のCA1領域のpyramidal neuronがアポトーシスを起こすことは良く知られているが、このdelayed neural deathが幹細胞を静脈内移植することで抑制されることが判明した。そして、この治療効果発揮のメカニズムとして神経栄養因子であるBDNFが関与していることが判明した。さらに、移植した骨髄幹細胞は、脳虚血領域内のCA1領域で生着しpyramidal neuronへと分化することも判明した。そして、これらの組織学的な知見は、行動学的解析(脳高次機能評価)でも同様に治療効果として確認することができた。これらの結果より、幹細胞による治療は、神経栄養作用と再生作用により、運動機能などの改善のみならず、脳高次機能の改善も促進する作用が期待され、認知症の治療にも有用性が示された。

また、fMRIによる脳機能解析の結果、幹細胞治療メカニズムに、脳梗塞病巣への直接的な治療効果の他に、対側の健常脳の可塑性を向上させることが判明した。

### 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)当初の計画については予定通り進行している。また、研究の過程で新たな発見

も得られ、そういった意味では当初の想定以上の知見が得られている。

#### 4. 今後の研究の推進方策

脳梗塞亜急性期～慢性期における細胞治療の効果のメカニズムを更に解析すると同時に、①治療効果を更に高める方法の開発、②対側の健常脳の可塑性が治療効果へ関与するメカニズムの解析を行い、新たな治療戦略を策定するための基礎研究を行う予定である。

#### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① Honmou O, Houkin K, Matsunaga T, Niitsu Y, Ishiai S, Onodera R, Waxman SG, Kocsis JD: Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells into stroke: Brain 2011, (doi:10.1093/brain/awr063). 査読有り
- ② Komatsu K, Honmou O, Suzuki J, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD: Therapeutic time window of mesenchymal stem cells derived from bone marrow after cerebral ischemia. Brain Res 1334: 84-92, 2010. 査読有り
- ③ Zheng W, Honmou O, Miyata K, Harada K, Suzuki J, Liu H, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD: Therapeutic benefits of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow after global cerebral ischemia. Brain Res 1310: 8-16, 2010. 査読有り
- ④ Song CH, Honmou O, Ohsawa N, Nakamura K, Hamada H, Furuoka H, Hasebe R, Horiuchi M: Effect of transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on mice infected with prions. Journal of Virology 83: 5918-5927, 2009. 査読有り
- ⑤ Toyama K, Honmou O, Harada K, Suzuki J, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD: Therapeutic benefits of angiogenic gene-modified human mesenchymal stem cells after cerebral ischemia. Exp Neurol 216: 47-55, 2009. 査読有り
- ⑥ Omori Y, Honmou O, Harada K, Suzuki J, Houkin K, Kocsis JD: Optimization of a therapeutic protocol for intravenous injection of human mesenchymal stem cells after cerebral ischemia in adult rats. Brain Res 1236: 30-38, 2008. 査読有り
- ⑦ Onda T, Honmou O, Harada K, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD: Therapeutic benefits by human mesenchymal stem cells (hMSCs) and Ang-1 gene-modified hMSCs after cerebral ischemia. J Cereb Blood Flow Metab 28: 329-340, 2008. 査読有り

[学会発表] (計 11 件)

- ① 本望 修 自己培養骨髄幹細胞による脳梗塞の再生医療 第 2 回日本ニューロリハビリテーション学会学術集会 2011.02.12 名古屋
- ② 本望 修 脳神経疾患に対する骨髄幹細胞移植による救急医療 第 16 回日本脳神経外科救急学会 2011.01.30 名古屋
- ③ 本望 修 脊髄損傷に対する培養骨髄幹細胞の静脈内投与 社団法人 日本脳神経外科学会 第 69 回 学術集会 2010.10.28 福岡
- ④ 本望 修 脳梗塞の再生医療 第 13 回 日本栓子検出と治療学会総会 2010.10.19 福岡
- ⑤ 本望 修 脳梗塞に対する自己骨髄幹細胞を用いた再生医療 第 19 回 日本意識障害学会 2010.07.24 山口
- ⑥ 本望 修 脳梗塞に対する自己骨髄幹細胞の静脈内投与 第 13 回 日本病院脳神経外科学会 2010.07.17 釧路
- ⑦ 本望 修 脳梗塞に対する自己培養骨髄幹細胞の静脈内投与 第 255 回 日本内科学会北海道地方例会: 2010.06.19 札幌
- ⑧ 本望 修 脳神経外科学領域における再生医療の臨床応用の現状 第 35 回日本外科系連合学会学術集会 2010.06.18 千葉

- ⑨ 本望 修 脳卒中における再生医療の展望 第 30 回 日本脳神経外科コンgres総会 2010.05.09 横浜
- ⑩ Honmou O: Intravenous transplantation of autologous mesenchymal stem cells derived from bone marrow into stroke patients, and application for spinal cord injury. The International Conference of Stem Cells & Regenerative Medicine for Neurodegenerative Diseases 2010.04.23 Taiwan
- ⑪ 本望 修 脳梗塞に対する二重遺伝子導入ヒト骨髄幹細胞移植による治療 日本脳神経外科学会第 68 回学術総会 2009.10.14 東京

[図書] (計 11 件)

- ① 本望 修, 小野寺 理恵: 脳梗塞に対する自己骨髄幹細胞の静脈内投与. 臨床評価 38-3: 527-531, 2010.
- ② 本望 修: 脳血管障害の再生医療. 神経治療学 26: 753-757, 2009.
- ③ 本望 修: 骨髄幹細胞と神経再生. 医学のあゆみ 231: 1097-1100, 2009.
- ④ 本望 修, 宝金清博: 神経再生治療. 総合臨床 58: 217-220, 2009.
- ⑤ 本望 修, 宝金清博: 脳梗塞の神経再生医療. 医学のあゆみ 231: 553-556, 2009.
- ⑥ 本望 修, 大石美里, 宝金清博: 白質病変・分子レベルからみた病態, 治療の新展開-骨髄幹細胞移植による脳虚血障害の治療-. 分子脳血管病 8: 169-172, 2009.
- ⑦ Sasaki M, Radtke C, Honmou O, Houkin K, Kocsis JD: Development of a stroke model in the nonhuman primate and a safety study of IV infusion of human mesenchymal stem cells. Neuroscience Research Volume 65: Supplement 1, 2009.
- ⑧ 本望 修, 宝金清博: 骨髄幹細胞を用いた脳梗塞の治療. 脳外誌 17: 527-530, 2008.
- ⑨ 本望 修, 宝金清博: 脳梗塞急性期の治療 (4) 再生医療 (骨髄移植を中心に). 神経治療学 25: 545-548, 2008.
- ⑩ 本望 修: 再生医療-脳卒中-. Clinical Rehabilitation 17: 673-678, 2008.
- ⑪ 本望 修: 骨髄由来中胚葉系幹細胞による脳梗塞の治療. Drug Delivery System 23: 526-528, 2008.

[産業財産権]

○出願状況 (計 3 件)

名称: 細胞懸濁液調製用デバイス

発明者: 本望 修

権利者: 札幌医科大学

種類: 特許

番号: 特願 2010-174903

出願年月日: 2010 年 8 月 3 日

国内外の別: 国内

名称: 血液採取キット

発明者: 本望 修 ら

権利者: 札幌医科大学、ニプロ株式会社

種類: 特許

番号: 特願 2010-174902

出願年月日: 2010 年 8 月 3 日

国内外の別: 国内

名称: 細胞増殖方法ならびに組織の修復および再生のための医薬

発明者: 本望 修 ら

権利者: 札幌医科大学

種類: 特許

番号: PCT/JP2008/002503

出願年月日: 2008 年 9 月 10 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

[その他]