

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 27 日現在

機関番号：34401  
研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2008～2011  
課題番号：20791020  
研究課題名(和文) 脱シアロ化短半減期エリスロポイエチン誘導体を用いた中枢神経再生治療法の開発  
研究課題名(英文) Development of regenerative therapy of central nervous system, using with asialo-erythropoietin.  
研究代表者  
三木 義仁 (Miki Yoshihito)  
大阪医科大学・医学部・非常勤医師  
研究者番号：50454541

研究分野：脳神経外科学

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：エリスロポイエチン、短半減期エリスロポイエチン、アシアロエリスロポイエチン、脳梗塞、脳虚血、神経保護、神経再生、選択的神経細胞死

## 1. 研究計画の概要

(1) 近年、造血ホルモンであるエリスロポイエチン(以下 EPO)に神経保護効果や血管新生効果があることが報告され中枢神経疾患の治療への応用が期待されている。本研究を開始するにあたって短半減期エリスロポイエチン誘導体である脱シアル化エリスロポイエチン(以下 Asialo-EPO)が EPO と同等の神経保護効果と EPO を上回る血管新生効果を発揮することをラット中大脳動脈閉塞脳梗塞モデルに対する治療実験で確かめた。本研究ではヒトの蘇生後脳症の疾患モデルに相当すると考えられているスナネズミ一過性4血管閉塞モデルを用いて、Asialo-EPO の持つ生物学的治療効果について検討を行う計画とした。

## 2. 研究の進捗状況

平成20年度から22年度にかけて、ヒトの蘇生後脳症の疾患モデルに相当すると考えられているスナネズミ一過性4血管閉塞モデルを用いて、Asialo-EPO の持つ生物学的治療効果について検討を行った。本疾患モデルでは脳虚血の導入により海馬 CA1 領域をはじめとする虚血脆弱部位を中心に選択的にアポトーシスを主体とした神経細胞脱落が生じるが、本モデルに虚血作成後超急性期で EPO および Asialo-EPO を投与するとコントロール群(PBS 投与群)と比較して有意な神経細胞保護効果ならびに空間認知機能学習効果の改善が認められることを明らかにした。また EPO 投与時に観察される造血亢進による多血症は虚血性疾患の治療において不利な副作用と考えられているが、Asialo-EPO 群では EPO 群と同等の治療効果が得られているにも

関わらず造血能の亢進は全く観察されなかった。

現在、本疾患モデルにおける asialo-EPO の therapeutic time window と神経幹細胞に対する内因性神経再生による再生促進作用について検討を進めている。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

当初の計画通りに検討が行われている。

## 4. 今後の研究の推進方策

全脳虚血モデルに対し、asialo-EPO の therapeutic time window と神経幹細胞に対する内因性神経再生による再生促進作用について検討を進める予定である。

## ●疾患モデル：スナネズミ全脳虚血モデル

脳虚血の導入により海馬 CA1 領域をはじめとする虚血脆弱部位を中心に脳梗塞を生じる本動物モデル(ヒトの心肺停止後蘇生後脳症に近似)を用いて治療実験を行う。本モデルに対し虚血作成後超急性期での治療による神経保護効果ならびに空間認知機能学習効果については既に証明しているが(論文発表済み)、虚血後急性期～亜急性期で同様の治療実験を行いその治療効果、特に神経再生効果の有無と程度について以下の検討を行い asialo-EPO の therapeutic time window を明らかにする。

(1)脳虚血作成後、0日後・4日後・7日後・14日後にそれぞれ asialo-EPO (体重当たり5単位/g)の経尾静脈投与および BrdU の腹腔内投与を開始(対照群として EPO 投与群、PBS 投与群を置く)。

(2)発症一ヶ月後の認知機能について明暗室受動回避試験および水迷路試験にて評価する。

(3)発症一ヶ月後時点での病理標本を作成し、脳梗塞巣の組織学的評価を行う。

①残存神経細胞数と BrdU 陽性神経細胞数(内在性再生神経細胞)。

②BrdU 陽性の血管内皮細胞、グリア細胞の数と分布。

③BrdU/MAP2 陽性細胞の分布と軸索伸長ならびにシナプス形成の有無と程度。  
などの検討を行う予定である。

#### 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1件)

①Yamashita T, Nonoguchi N, Ikemoto T, Miyatake S, Kuroiwa T, Asialoerythropoietin attenuates neuronal cell death in the hippocampal CA1 region after transient forebrain ischemia in a gerbil model., Neurological Research, 32(9), 957-962, 2010, 査読有り

[学会発表] (計3件)

① 山下太郎、脱シアル酸エリスロポイエチン asialoerythropoietin によるスナネズミ前脳虚血モデルに対する神経保護効果、第 35 回京滋免疫カンファレンス、2009 年 11 月 7 日、京都国際ホテル

② 山下太郎、脱シアル酸エリスロポイエチン asialoerythropoietin によるスナネズミ前脳虚血モデルに対する神経保護効果、第 68 回日本脳神経外科学会総会、2009 年 10 月 14 日、京王プラザホテル

③ 山下太郎、脱シアル酸エリスロポイエチン asialoerythropoietin によるスナネズミ前脳虚血モデルに対する神経保護効果、第 10 回日本分子脳神経外科学会、2009 年 9 月 19 日、岡山コンベンションセンター