

機関番号：20101

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791139

研究課題名 (和文) 末梢静脈から移植された神経幹細胞の運命：  
精神疾患への臨床応用を目指して

研究課題名 (英文) Stem cell therapy for fetal alcohol spectrum disorders

研究代表者

吉永 敏弘 (YOSHINAGA TOSHIHIRO)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：70404704

研究成果の概要 (和文)：胎児性アルコールスペクトラム障害(FASD)は妊娠中の飲酒により児に生じる障害であるが、現在のところ根治的治療法は存在しない。本研究では FASD モデルラットにラット胎仔脳由来神経幹細胞を経静脈的に移植することで、FASD の主要な症状である社会性・認知機能の障害が改善することを示した。末梢静脈より移植した神経幹細胞は脳内に移行し、移植された細胞は脳内でさまざまなフェノタイプの神経細胞に分化、シナプスを形成し、障害された神経回路網を修復している可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：We presume that remodeling of neural network can be one of the strategies to treat fetal alcohol spectrum disorders (FASD). In this study, we suggest that transplantation of neural stem cells (NSC) to FASD model rats improve social and cognitive impairment of FASD. NSC transplanted via peripheral vein migrated into the brain of FASD model, and differentiated to various phenotypic neurons. These results suggest the possibility that NSC transplantation can be effective therapy for FASD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：脳・神経 神経科学 再生医学 神経幹細胞 アルコール

## 1. 研究開始当初の背景

妊娠中に大量に飲酒した母親から生まれた子供に顔貌の異常、発育不全、行動異常の3つの兆候が現れる胎児性アルコール症候群の存在は1960年代末から報告されてきた。最近、アルコール依存症者をはじめとする大酒家の母親を持つ子供の中に、外見上の異常はないものの、家庭や学校における不適応を繰り返すものが多いことが報告され、胎児性アルコール・スペクトラム障害 (fetal alcohol

spectrum disorder:FASD)として注目されている。これらの子供では、成長後の知的障害や衝動性、多動性、抑うつ、引きこもり、対人関係の障害が特徴的な症候としてあげられるが、その生物学的基盤は未だ不明であり、根治的な治療法はない。我々はアルコールによる脳神経ネットワークの異常に関わる細胞・分子変異について、これまでに1) アルコールにより神経幹細胞の分化が特異的に変化し、神経細胞への分化が抑制され、一

方で、グリア細胞への分化が促進されること、2) その機序に神経幹細胞内栄養因子シグナル伝達系の変化が関与することを明らかとし、母体のアルコール摂取によって、胎児の脳内で神経幹細胞の機能に異常が生じ、その後の子供の脳神経ネットワークの形成が重大な影響を受けている可能性があること、3) 胎児期にアルコール曝露させたラットへの神経幹細胞の移植療法により、FASD に特徴的な衝動性と多動性の症状が改善することを示し、幹細胞移植が FASD の問題行動・精神症状の根治的な治療法となる可能性があることを指摘してきた。今回、移植療法が FASD のより重要な症状である、社会機能や認知機能に対しても効果を期待できるのかを確認し、また神経幹細胞移植後の移植細胞の動態を調べることで、移植治療による症状改善のメカニズムを明らかにしたい。

## 2. 研究の目的

本研究は、妊娠期の母親の摂取によって、胎児がアルコールに曝露された場合の、子供の生後の脳機能発達と成長後の認知・行動異常について、ストレス記憶細胞としての神経幹細胞の機能異常が病態に関与しているとの観点から、神経幹細胞移植による治療の可能性とそのメカニズムについて検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 妊娠ラットにアルコールを投与し、その後出生した仔を FASD モデルとして用いた。コントロール群および FASD モデル群に蛍光蛋白で標識した胎児ラット脳由来神経幹細胞を尾静脈より注射した。

実験には以下の 3 群を使用した。

- 1) 対照群：非アルコール曝露、非移植群
- 2) FASD 群：胎児期アルコール曝露、非移植群
- 3) FASD 移植群：移植群：胎児期アルコール曝露、移植群

(2) 細胞移植による行動障害の変化について、社会相互作用試験と新奇物体探索試験を行い社会機能、学習能力、認知機能の評価を行った。

(3) 行動評価の後、ラットの脳スライスを作成し、免疫染色により移植した細胞が脳に移行した後の分化動態を観察した。さらに細胞移植によって脳の神経回路が機能的に修復・再生していることについて、社会性機能に関連が深いと考えられている領域（前部帯状回、扁桃体）において、シナプス後膜に特異的に発現する蛋白である PSD95 の量的変化を western blotting 法を用いて解析した。

## 4. 研究成果

(1) FASD の行動異常と移植による治療効果

1) 社会相互作用試験：対照群に対し、FASD 群では、同じ空間に新たに入れた同種のラットに対する接触回数が少なく、接触時間が短く、社会性・コミュニケーションの障害が存在した。これに対し、FASD モデルに神経幹細胞を移植した群では、他のラットに対する接触性が有意に増加し、社会性障害が改善したことが考えられた（図 1）。

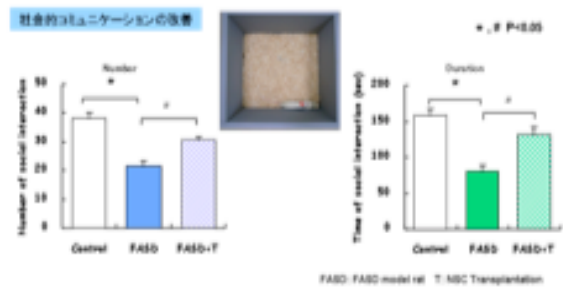


図 1：社会相互作用試験

2) 新奇物体探索試験：初めてみるものを探索するラットの習性を利用した試験であり、対照群では testing phase で、新たな物体 C に接触する時間が長くなるが、FASD 群では物体 A と C への接触時間が変わらなかった。FASD 移植群では object C への接触が増えており、移植により学習機能が改善したと考えられる（図 2）。

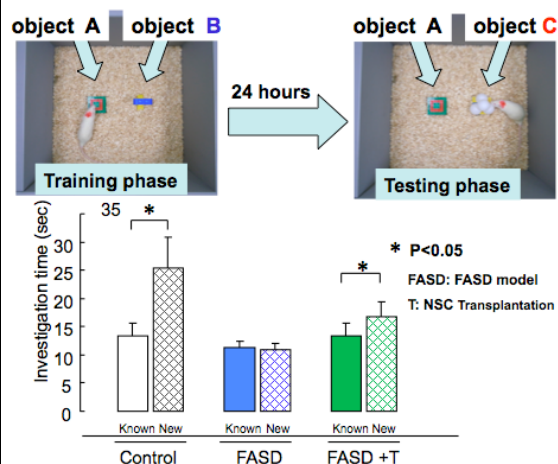


図 2：新奇物体探索試験

(2) 脳内に移行した移植細胞の解析

1) 移植神経幹細胞の分化：脳スライスの免疫染色により、移植した神経幹細胞が脳の諸領域で 5-HT 陽性のセロトニン作動性ニューロン、GAD 陽性の GABA 作動性ニューロン、ChAT 陽性のアセチルコリン作動性ニューロンとさまざまなフェノタイプの神経細胞に分化していることが確認された（図 3）。

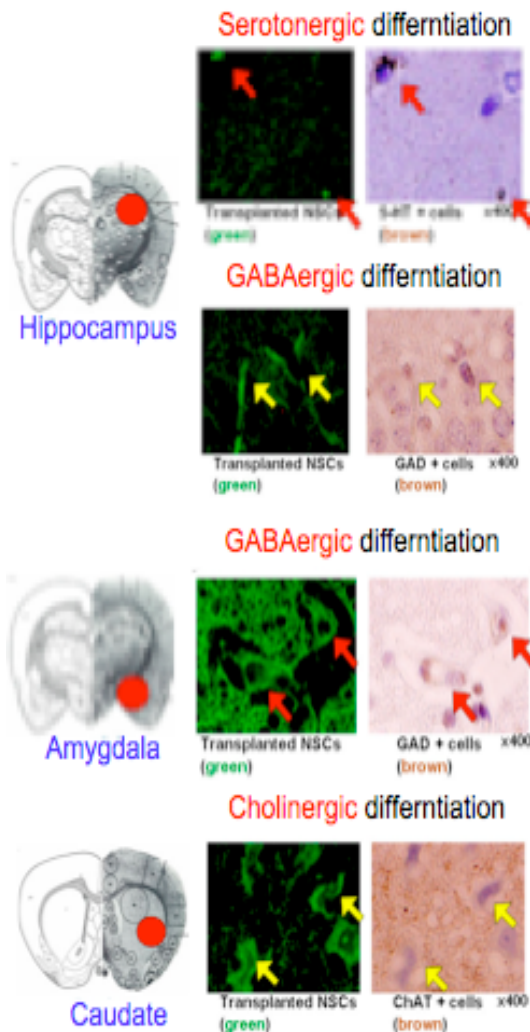


図 3：移植神経幹細胞の分化

2) 移植した細胞がシナプスを形成して、神経回路に組み込まれているのか知るために、神経シナプスの発達変化の観点で解析した。FASD モデルラットの前部帯状回、および扁桃体で、シナプス蛋白 PSD95 の発現低下が認められたが、FASD 移植群では、同領域での PSD95 の発現が対象群と同等にまで増加しており、移植した細胞がシナプスを形成している可能性が示唆された。(図 4)

図 4：シナプス蛋白 PSD95 の発現

以上の結果より、FASD モデルラットに生じる社会機能、学習機能、認知機能の障害は、ラット脳由来神経幹細胞の経静脈的投与に



より改善し、その機序には、移植した神経幹細胞が FASD モデルラットの脳内に移行し、移植された細胞がさまざまなフェノタイプの神経細胞に分化、シナプスを形成して、障害された神経回路網を修復している可能性が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(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 鵜飼渉, 橋本恵理, 石井貴男, 吉永敏弘, 渡邊公彦, 小野貴文, 館農勝, 渡邊一平, 白坂智彦, 齋藤利和. 気分障害における神経回路網の修復再生と認知機能. 臨床精神医学, 査読有 38 巻 2009, 421-428
- ② 橋本恵理, 吉永敏弘, 石井貴男, 齋藤諭, 鵜飼渉, 齋藤利和. アルコールによる脳障害に対する再生医療的アプローチの可能性. 日本アルコール・薬物医学会雑誌, 査読有 44 巻 2009 674-679

[学会発表] (計 10 件)

- ① 白坂知彦, 鵜飼渉, 木川昌康, 吉永敏弘, 渡邊公彦, 渡邊一平, 金田博雄, 館農勝, 橋本恵理, 齋藤利和. 神経幹細胞移植による FASD モデルラットの「社会脳」の再生. 第 45 回日本アルコール・薬物医学会: 2010 年 10 月 7-9 日: 小倉
- ② 吉永敏弘, 鵜飼渉, 橋本恵理, 齋藤利和. 胎児性アルコール・スペクトラム障害と cell therapy の可能性. (シンポジウム) 第 22 回日本アルコール精神医学会: 2010 年 10 月 7-9 日: 小倉
- ③ Shirasaka T, Ukai W, Hashimoto E, Ono T, Yoshinaga T, Ishii T, Tateno M, Watanabe K, Watanabe I, Kaneta H, Kigawa Y, Saito T. Stem cell therapy-social function recovery in FASD model. International Society for Biomedical Research on Alcoholism. 2010 Sep 13-16, Paris, France.
- ④ Hashimoto E, Ono T, Ukai W, Yoshinaga T, Ishii T, Watanabe K, Watanabe I, Shirasaka T, Tateno M, Saito T. Stem cell therapy functional recovery in a neurodevelopmental model of schizophrenia. Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum: 2010 Jun 6-10, Hong Kong.
- ⑤ 鵜飼渉, 橋本恵理, 吉永敏弘, 白坂知彦, 石井貴男, 館農勝, 小野貴文, 渡邊公彦, 渡邊一平, 齋藤利和. ストレスによる脳神経回路網変異-障害と修復の分子メカニズム-. (シンポジウム) 第 27 回 日本青

年期精神療学会：2009年12月4-5日：横浜

- ⑥ 鵜飼渉, 小野貴文, 白坂知彦, 橋本恵理, 吉永敏弘, 石井貴男, 渡邊公彦, 渡邊一平, 館農勝, 齋藤利和. 精神疾患の経末梢的脳修復-GABA インターニューロン再生と社会コミュニケーションの回復-. 第42回 精神神経系薬物治療研究報告会：2009年12月4日：大阪
- ⑦ Ukai W, Yoshinaga T, Shirasaka T, Ishii T, Tateno M, Hashimoto E, Ono T, Watanabe K, Watanabe I, Saito T. The stem cell therapy as a possible new treatment for alcohol induced brain damage. 1st Congress of Asia-Pacific Society of Alcohol and Addiction Research：2009 Nov12-14：Korean.
- ⑧ 白坂知彦, 小野貴文, 鵜飼渉, 吉永敏弘, 石井貴男, 渡邊公彦, 渡邊一平, 館農勝, 橋本恵理, 齋藤利和. 神経幹細胞移植はFASD モデルラットの社会行動異常を改善する. 第44回 日本アルコール・薬物医学会：2009年9月7-9日：横浜
- ⑨ 鵜飼渉, 橋本恵理, 石井貴男, 白坂知彦, 吉永敏弘, 館農勝, 小野貴文, 渡邊公彦, 渡邊一平, 齋藤利和. アルコールによる脳神経ネットワークの変異 行動変化と分子メカニズムの解析から. (シンポジウム) 第44回 日本アルコール・薬物医学会：2009年9月7-9日：横浜
- ⑩ 鵜飼渉, 小野貴文, 渡邊公彦, 橋本恵理, 吉永敏弘, 石井貴男, 館農勝, 渡邊一平, 白坂知彦, 齋藤利和. 神経化学と精神医学の融合による精神疾患病態解明・治療法開発 サイトカイン変化と精神疾患の病態について. (シンポジウム) 第52回 神経化学会：2009年6月21-24日：群馬

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：  
発明者：

権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉永 敏弘(YOSHINAGA TOSHIHIRO)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：70404704