

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390349

研究課題名(和文) パーキンソン病に対するカプセル化神経幹細胞移植：post-DBS時代を見据えて

研究課題名(英文) Encapsulated neural stem cell transplantation for Parkinson's Disease

研究代表者

伊達 勲 (Date, Isao)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：70236785

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円、(間接経費) 4,140,000円

研究成果の概要(和文)：カプセルから効率よく栄養因子を分泌させるには、カプセルに封入する細胞の生存効率を上げる必要があると考え、GDNF pre-treatmentが神経幹細胞の生存効率を上げるか検討した。in vitroでは、虚血環境下において、GDNF pre-treatmentはアポトーシス細胞数の有意な減少をもたらした。また、パーキンソン病モデルラットを作成しGDNF pre-treatmentを行った神経幹細胞を移植したところ、有意に良好な移植細胞の生存が確認できた。以上よりGDNF pre-treatmentはアポトーシスを抑制し神経幹細胞の生存効率の向上をもたらすと考えられた。

研究成果の概要(英文)：It is necessary to enhance the survival of encapsulated cells in order to enhance secretion of trophic factor from encapsulated cells. We examined whether GDNF pre-treatment could enhance the survival of neural stem cells. Under the ischemic-like injury by oxygen-glucose deprivation, the number of apoptotic cells was significantly decreased by GDNF pre-treatment. Moreover, the number of survival cells after transplantation for Parkinson's model of rat was significantly increased by GDNF pre-treatment. Based on these results, GDNF pre-treatment enhances the survival of neural stem cells by suppression of apoptosis.

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：実験脳外科学 カプセル化神経幹細胞移植

### 1. 研究開始当初の背景

当研究グループでは、これまでパーキンソン病に対して、カプセル化細胞移植 (Date I et al. *JNeurosurg* 1996, Yasuhara T et al. *Neurosci Lett* 2005)、神経幹細胞移植 (Muraoka K et al. *JNeurosurg* 2008)、erythropoietin (EPO) 投与 (Kadota T et al. *Brain Res* 2009)、リハビリ (Tajiri N et al. *Brain Res* 2010) といった治療手段を使い、その治療効果について検討してきた。一方で、日常臨床においては、パーキンソン病患者に対して、脳深部刺激療法 (Deep brain stimulation: DBS) や脊髄刺激療法 (Spinal cord stimulation: SCS) を積極的に行っており、研究と臨床の相互 feedback が常に可能な状態を長年にわたって維持しているとの自負がある。DBS の有効性はすでに確立した事実であるが、全てのパーキンソン病患者に対して手術適応があるわけではない。その意味において、DBS でカバーされない患者に対する治療法や post-DBS 時代を見据えた治療法を模索するのが我々の任務だと考える。

### 2. 研究の目的

本研究ではパーキンソン病に対する post-DBS 時代を見据えた新時代のカプセル化幹細胞移植とはどうあるべきかを検討することを目的としている。

### 3. 研究の方法

(1) カプセルから効率よく目的の栄養因子を分泌させるためには、カプセルに封入する細胞の生存効率を上げる必要があると考え、神経幹細胞を GDNF で pre-treatment を行って移植した場合に生存効率上がるかどうかを in vitro, in vivo にて検討を行った。(2) 京都大学からマイクロカプセル化された human 由来の iPS 細胞の提供を受け、パーキンソン病モデルラットへ移植した。この iPS 細胞は、長時間のドパミン放出が可能となるように、Human の iPS 細胞に対してドパミンニューロンへの分化誘導をかけたのち、マイクロカプセル化されている。Human の iPS 細胞を用いるのであれば、将来の臨床応用を考えたとき、カプセル化技術を用いる必然性は乏しく、シナプス形成の点でも single cell の状態でそのまま移植の方が好ましいといえる。また一方で、我々がもつカプセル化技術でこのマイクロカプセルを封入して移植すれば、万が一の adverse effect が生じた際もすみやかな摘出が可能になる。以上の観点から、まずは、マイクロカプセル化されたものを分解した aggregate の状態のもの、さらに single cell 化されたものを、パーキンソン病モデルラットに移植し、細胞の生存を確認することとした。

### 4. 研究成果

(1) in vitro では GDNF で pre-treatment を行った後、OGD 負荷をかけたところ、アポ

トーシス細胞数の有意な減少を認めた。また、in vivo として medial forebrain bundle に 6-OHDA を投与してパーキンソン病モデルラットを作成し GDNF pre-treatment を行った NSC を移植したところ、移植された細胞の生存は、有意に良好であった。これらの結果より GDNF による pre-treatment はアポトーシスを抑制することで NSC の生存効率の向上をもたらすものと考えられた。本実験結果に関しては論文化し受理された。

(2) human 由来の iPS 細胞の提供を受け、パーキンソン病モデルラットへ移植したが、いずれの方法においても、従来我々が行ってきた動物モデルへの幹細胞移植と比較して、満足がいくほどの細胞生着が確認できなかった。細胞移植の目的は cell-replacement therapy であることを考えると、パーキンソン病にて障害されたドパミン神経を良好なドパミン分泌が確認されている細胞塊で置換することが好ましいといえるが、一方で、良好な細胞生着の観点からは、分化誘導がなされていない未分化な状態のものを用いることが好ましい、もしくは移植時のストレスにドパミン分化された iPS 細胞が弱い可能性が考えられ、この点は臨床応用において克服すべき問題点と考えられた。

### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 17 件)

1. Mannitol enhances therapeutic effects of intra-arterial transplantation of mesenchymal stem cells into the brain after traumatic brain injury Okuma Y, Wang F, Toyoshima A, Kameda M, Hishikawa T, Tokunaga K, Sugiu K, Liu K, Haruma J, Nishibori M, Yasuhara T, Date I. *Neurosci Lett* 554: 156-61, 2013  
doi: 10.1016/j.neulet.2013.08.058.  
(査読有)
2. Neuroprotective effects of liraglutide for stroke model of rats Sato K, Kameda M, Yasuhara T, Agari T, Baba T, Wang F, Shinko A, Wakamori T, Toyoshima A, Takeuchi H, Sasaki T, Sasada S, Kondo A, Borlongan CV, Matsumae M, Date I *Int J Mol Sci* 14: 21513-24, 2013  
doi: 10.3390/ijms141121513 (査読有)
3. Regenerative medicine for epilepsy: from basic research to clinical application Yasuhara T, Agari T, Kameda M, Kondo A, Kuramoto S, Jing M, Sasaki T, Toyoshima A, Sasada S, Sato K, Shinko A, Wakamori T, Okuma Y, Miyoshi Y, Tajiri N, Borlongan CV, Date I *Int J Mol Sci* 14: 23390-401, 2013  
doi: 10.3390/ijms141223390. (査読有)

4. パーキンソン病の外科治療 上利 崇、伊達 勲 *Mebio* 30(11): 58-64, 2013 (査読有)
  5. The neuroprotective and neurorescue effects of carbamylated erythropoietin Fc fusion protein (CEP0-Fc) in a rat model of Parkinson's disease Tayra JT, Kameda M, Yasuhara T, Agari T, Kadota T, Wang F, Kikuchi Y, Liang H, Shinko A, Wakamori T, Vcelar B, Weik R, Date I *Brain Research* 1502: 55-70, 2013  
doi: 10.1016/j.brainres.2013.01.042. (査読有)
  6. Intravenous grafts of amniotic fluid-derived stem cells induce endogenous cell proliferation and attenuate behavioral deficits in ischemic stroke rats Tajiri N, Acosta S, Glover LE, Bickford PC, Jacotte Simancas A, Yasuhara T, Date I, Solomita MA, Antonucci I, Stuppia L, Kaneko Y, Borlongan CV *PLoS One* 7: e43779, 2012  
doi: 10.1371/journal.pone.0043779. (査読有)
  7. The therapeutic potential of human umbilical cord blood transplantation for neonatal hypoxic-ischemic brain injury and ischemic stroke Wang F, Maeda N, Yasuhara T, Kameda M, Tsuru E, Yamashita Y, Shen Y, Tsuda M, Date I, Sagara Y *Acta Medica Okayama* 66(6): 429-434, 2012 (査読有)
  8. Anti-high mobility group box-1 antibody therapy for traumatic brain injury Okuma Y, Liu K, Wake H, Zhang J, Maruo T, Date I, Yoshino T, Ohtsuka A, Otani N, Tomura S, Shima K, Yamamoto Y, Yamamoto H, Takahashi H K, Mori S, Nishibori M *Annals of Neurology* 72: 373-384, 2012  
Doi:10.1002/ana.23602 (査読有)
  9. 脊髄刺激療法 上利 崇、伊達 勲 *神経治療学* 29(3): 337-340, 2012 (査読有)
  10. パーキンソン病モデルラットに対する間葉系幹細胞移植の治療効果 王 飛、安原隆雄、亀田雅博、伊達 勲 *岡山医学会雑誌* 124: 111-114, 2012 (査読有)
  11. GDNF-pretreatment enhances the survival of neural stem cells following transplantation in a rat model of Parkinson's disease Wang F, Kameda M, Yasuhara T, Tajiri N, Kikuchi Y, Liang HB, Tayra JT, Shinko A, Wakamori T, Agari T, Date I. *Neurosci Res.* 2011 Sep;71(1):92-8. Epub 2011 Jun 15.  
doi: 10.1016/j.neures.2011.05.019. (査読有)
  12. Striatal stimulation nurtures endogenous neurogenesis and angiogenesis in chronic-phase ischemic stroke rats. Morimoto T, Yasuhara T, Kameda M, Baba T, Kuramoto S, Kondo A, Takahashi K, Tajiri N, Wang F, Meng J, Ji YW, Kadota T, Maruo T, Kinugasa K, Miyoshi Y, Shingo T, Borlongan CV, Date I. *Cell Transplant.* 2011;20(7):1049-64.  
doi: 10.3727/096368910X544915. (査読有)
  13. Mesenchymal stem cell transplantation therapy for Parkinson's disease and cerebral ischemia Wang F, Yasuhara T, Kameda M, Date I *Current Trends in Neurology* 5: 13-16, 2011 (査読有)
  14. Urinary 8-OHdG elevations in a partial lesion rat model of Parkinson's disease correlate with behavioral symptoms and nigrostriatal dopaminergic depletion Kikuchi Y, Yasuhara T, Agari T, Kondo A, Kuramoto S, Kameda M, Kadota T, Baba T, Tajiri N, Wang F, Tayra JT, Liang H, Miyoshi Y, Borlongan CV, Date I *Journal of Cellular Physiology* 226(5): 1390-1398, 2011  
doi: 10.1002/jcp.22467. (査読有)
  15. BDNF-secreting capsule exerts neuroprotective effects on epilepsy model of rats Kuramoto S, Yasuhara T, Agari T, Kondo A, Jing M, Kikuchi Y, Shinko A, Wakamori T, Kameda M, Wang F, Kin K, Eda Hiro S, Miyoshi Y, Date I *Brain Research* 1368: 281-289, 2011  
doi: 10.1016/j.brainres.2010.10.054. (査読有)
  16. 脳梗塞の再生療法 伊達 勲 *夢* 21 7: 96-97, 2011 (査読有)
  17. 脳神経外科医教育における基礎研究の意義 伊達 勲 *脳神経外科ジャーナル* 20(2): 115-121, 2011 (査読有)
- 〔学会発表〕(計 22 件)
1. 第 39 回日本脳卒中学会総会：STROKE 2014：大阪, 2014.03.14 経動脈的骨髄幹細胞移植の移植時期による治療効果の違い 一過性脳虚血モデルラットを用いた検討 豊嶋敦彦、安原隆雄、亀田雅博、竹内勇人、佐藤顕一郎、佐々木達也、佐々田晋、新光阿以子、上利 崇、伊達 勲
  2. 第 13 回日本再生医療学会総会：京都, 2014.03.04 ラット一過性中大脳動脈閉塞モデルに対する GLP-1 受容体作動薬リ

- ラゲルチド投与の効果 佐藤顕一郎、亀田雅博、安原隆雄、上利 崇、王 飛罪、Judith Tayra、新光阿以子、若森孝彰、豊嶋敦彦、竹内勇人、馬場胤典、松前光紀、伊達 勲
3. 第7回京都神経内科学アカデミー：京都，2014.02 .08 パーキンソン病の外科治療最前線 脳深部・脊髄刺激療法（特別講演）伊達 勲
  4. 第53回日本定位・機能神経外科学会：大阪，2014.02.08 パーキンソン病モデルラットに対する脊髄刺激による神経保護効果 神経栄養因子・成長因子の検討 新光阿以子、上利 崇、安原隆雄、亀田雅博、近藤聡彦、佐々木達也、佐々田晋、佐藤顕一郎、竹内勇人、若森孝彰、伊達 勲
  5. The 9th Scientific Meeting for the Asian Australasian Society of Stereotactic and Functional Neurosurgery (AASSFN 2014) : Shanghai, China, 2014.01.11 Cognitive functions in patients with Parkinson's disease before deep brain stimulation of the-subthalamic nucleus Wakamori T, Agari T, Kondo A, Shinko A, Sasada S, Sasaki T, Kameda M, Yasuhara T, Date I
  6. The 9th Scientific Meeting for the Asian Australasian Society of Stereotactic and Functional Neurosurgery (AASSFN 2014) : Shanghai, China, 2014.01.11 The long-term results of subthalamic nucleus stimulation for Parkinson's disease Sasaki T, Agari T, Shinko A, Sasada S, Wakamori T, Kondo A, Kameda M, Yasuhara T, Date I
  7. The 9th Scientific Meeting for the Asian Australasian Society of Stereotactic and Functional Neurosurgery (AASSFN 2014) : Shanghai, China, 2014.01.11 Improvement of surgical technique and outcome in re-operation for subthalamic nucleus deep brain stimulation (STN-DBS) Agari T, Kondo A, Shinko A, Sasada S, Sasaki T, Wakamori T, Kameda M, Yasuhara T, Date I
  8. 平成25年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「特発性正常圧水頭症の病因・病態と診断・治療に関する研究」班班会議：東京，2013.11.22 脳深部刺激療法（DBS）治療を受けたパーキンソン病患者とパーキンソン症状を合併した definite iNPH（特発性正常圧水頭症）患者の画像比較 亀田雅博、伊達 勲
  9. 第7回パーキンソン病・運動障害疾患コングレス：東京，2013.10.11 パーキンソン病患者における幻覚と認知機能の関連 若森孝彰、上利 崇、近藤聡彦、新光阿以子、佐々田晋、佐々木達也、亀田雅博、安原隆雄、伊達 勲
  10. 第210回美作神経疾患研究会学術講演会：津山，2013.08.02 パーキンソン病に対する最新外科治療 脳深部・脊髄刺激療法（特別講演）伊達 勲
  11. 第27回日本ニューロモデュレーション学会：東京，2013.05.18 治療抵抗性の腰・下肢痛を合併したパーキンソン病患者に対するSCSの短・中期の効果 上利 崇、安原隆雄、近藤聡彦、新光阿以子、佐々田晋、佐々木達也、新治有径、若森孝彰、伊達 勲
  12. 第20回カテコールアミンと神経疾患研究会：東京，2013.04 .27 進行期パーキンソン病における認知機能低下と脳血流評価 若森孝彰、上利 崇、近藤聡彦、新光阿以子、佐々田晋、佐々木達也、亀田雅博、安原隆雄、伊達 勲
  13. （社）日本脳神経外科学会第71回学術総会：大阪，2012.10.17-10.19 電気刺激を用いた再生医療 神経新生をめざして 亀田雅博、安原隆雄、馬場義美、森本尊雅、松前光紀、伊達 勲
  14. Society for Neuroscience 42nd Annual Meeting : New Orleans, U.S.A., 2012.10.13-10.17 Anti-high mobility group box-1 antibody therapy for traumatic brain injury Okuma Y, Liu K, Wake H, Maruo T, Teshigawara K, Tomura S, Otani N, Shima K, Yamamoto Y, Yamamoto H, Takahashi H, Mori S, Date I, Nishibori M
  15. 第35回日本神経科学大会：名古屋，2012.09.18-09.21 パーキンソン病モデルラットに対するCEPOの融合タンパク質への神経保護効果 平 ジュディッチ、亀田雅博、安原隆雄、上利 崇、門田知倫、王 飛罪、菊池陽一郎、梁 晗柏、新光阿以子、若森孝彰、佐藤顕一郎、伊達 勲
  16. 第11回日本再生医療学会総会：横浜，2012.06.13-06.14 電気刺激療法と再生神経新生をめざして 亀田雅博、安原隆雄、馬場胤典、森本尊雅、Taylor CJ、Abraham WC、Bartlett PF、Borlongan CV、松前光紀、伊達 勲
  17. 第19回カテコールアミンと神経疾患研究会：東京，2012.05.12 The potential of carbamylated erythropoietin fusion protein on parkinson's disease model of rats タイラ ジュディッチ、亀田雅博、安原隆雄、王 飛罪、菊池陽一郎、梁 晗柏、新光阿以子、若森孝彰、上利 崇、伊達 勲
  18. 第34回日本神経科学大会：横浜，2011.09 .16 長期増強は潜在的神経前駆

- 細胞の活性化をもたらす 亀田雅博、Tara Walker、伊達 勲、Perry Bartlett
19. 第 34 回日本神経科学大会：横浜，2011.09.15 6-OHDA 投与ラットにおける移植前神経幹細胞に対する GDNF 前投与の神経保護効果 王 飛罪、道上宏之、亀田雅博、西木禎一、大守伊織、伊達 勲、松井秀樹
  20. 第 36 回日本脳卒中学会総会：STROKE 2011：京都，2011.07.31 移植時低酸素・虚血負荷に対する GDNF 前投与による神経幹細胞への保護効果 王 飛罪、亀田雅博、安原隆雄、菊池陽一郎、平ジュディッチ トーマス、梁 晗柏、新光阿以子、若森孝彰、三好康之、伊達 勲
  21. 神経組織の成長・再生・移植研究会第 26 回学術集会：東京，2011.06.25 Potential of carbamylated erythropoietin fusion protein on parkinson's disease model of rat Judith Thomas Tayra、亀田雅博、安原隆雄、三好康之、伊達 勲
  22. 北海道大学細胞療法研究会：札幌，2011.04.26 パーキンソン病に対する外科治療 脳深部刺激療法と再生療法 伊達 勲

〔図書〕(計 1 件)

1. Advances in Regenerative Medicine 2011 Kameda M , In Tech, p404

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

伊達 勲 (DATE ISAO)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授  
研究者番号：70236785

##### (2) 研究分担者

上利 崇 (AGARI TAKASHI)

岡山大学・岡山大学病院・助教  
研究者番号：60423290

亀田 雅博 (KAMEDA MASAHIRO)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教  
研究者番号：50586427

小野 成紀 (ONO SHIGEKI)

川崎医科大学・医学部・教授  
研究者番号：40335625  
(H23-H24)

##### (3) 連携研究者

杉生 憲志 (SUGIU KENJI)

岡山大学・岡山大学病院・准教授  
研究者番号：40325105

徳永 浩司 (TOKUNAGA KOJI)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授  
研究者番号：40294467

市川 智継 (ICHIKAWA TOMOTSUGU)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・講師  
研究者番号：10362964

黒住 和彦 (KUROZUMI KAZUHIKO)

岡山大学・岡山大学病院・講師  
研究者番号：20509608

菱川 朋人 (HISHIKAWA TOMOHIITO)

岡山大学・岡山大学病院・助教  
研究者番号：60509610

以上