

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18390399  
 研究課題名（和文） 神経移植・再生治療における核磁気共鳴装置を用いた細胞・分子追跡システム  
 研究課題名（英文） Cellular and molecular trafficking of transplanted cell into central nervous system by magnetic resonance unit

## 研究代表者

菊田 健一郎 (KIKUTA KENICHIRO)  
 京都大学・医学研究科・講師  
 研究者番号：90332725

## 研究成果の概要：

骨髄由来血管内皮前駆細胞は脳虚血モデルにおいて虚血巣に集積して内皮に分化し脳虚血軽減効果および虚血後の脳血流回復効果を認めるが、頸動脈内膜肥厚モデルに投与すると慢性期に血管内皮ではなく平滑筋に分化・増殖し内膜肥厚を増悪させる。血管内皮前駆細胞の分化調節には TGF- $\beta$ 1 が主に関与していた。動物用 7T MRI をもちいることでラット、マウスの脳血管評価が可能となりマウス慢性進行性脳血管狭窄モデルが作成可能であった。動物用 PET をもちいることでラット脳血流定量が可能となりカルシウム拮抗剤のニフェジピンが虚血慢性期の脳血流保持に関与することが明らかになった。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	5,600,000	1,680,000	7,280,000
2007年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
2008年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
年度			
年度			
総計	15,200,000	4,560,000	19,760,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学(7304)

キーワード：細胞分子イメージング，細胞移植治療，脳虚血，頸動脈狭窄，内皮前駆細胞，骨髄

## 1. 研究開始当初の背景

近年脳虚血、パーキンソン病など難治性中枢神経疾患における細胞移植療法が試みられるようになった。我々は血管内皮前駆細胞 (EPC) を用いて中枢神経の血管再生を目指し、移植実験を行い、脳虚血モデルにおいて EPC

が生着・機能し疾患モデルの機能改善をもたらすことを研究してきた。またヒトにおける臨床研究において核磁気共鳴装置 (MRI) を用い脳内神経路、微小血管、出血、血流代謝情報の描出など新たな脳生体情報の描出について多数の成果を挙げた。

本研究はこれらの成果を踏まえ、ラット脳虚血モデルおよび脳血管狭窄モデルに対する EPC を移植し移植実験において移植後の脳内挙動を追跡するシステムを確立することにより霊長類ならびにヒトへの臨床応用を促進することが求められる。

## 2. 研究の目的

本研究の達成目標は中枢神経系の疾患動物モデルに対する移植・再生治療実験を用いて移植後の細胞挙動とホスト脳環境の MRI による評価法を構築することである。

## 3. 研究の方法

2006 年度はラット下腿骨髄より採取した骨髄単核球成分をフィブロネクチンでコーティングした培養皿の上で VEGF 等の栄養因子を添加した専用培地で 4 日間培養し、非附着細胞を除いた上でさらに 7-10 日培養する方法を用いてラット骨髄由来血管内皮前駆細胞 (EPC) の培養・大量調整を行い、本細胞の character 解析を施行し、さらにラット脳虚血モデルへの投与し、投与後の神経学的所見、脳血流 (レーザドップラー法) を測定し、病理学的検討を行った。

2007 年はラットの頸動脈内膜肥厚モデルに投与しその効果および病理学的検討を行った。また、EPC の長期培養、栄養因子による分化調節について検討した。

2008 年は脳虚血モデルにおいて動物用 PET を用いて IMP を用いた脳血流測定系を構築し、ニフェジピンによる虚血慢性期の脳血流保持効果と EPC との関係を解析した。また滋賀医科大学超高磁場(7T)MR を用いたマウス脳血管の評価法を確立した。

## 4. 研究成果

EPC は脳虚血モデルにおいて虚血巣に集積し脳虚血軽減効果および虚血後の脳血流回復効果を認め論文発表した。

ラット頸動脈内膜肥厚モデルに投与すると慢性期において EPC が血管内皮ではなく平滑筋に分化・増殖することで内膜肥厚を増悪させることが判明した。そのメカニズムに TGF- $\beta$ 1 が主に関与していることを中和交代および siRNA による実験で明らかにし現在論文投稿を行っている。また本法で培養された EPC が長期間培養可能であることおよび内皮の性格を維持することを示した。また動物用 7T MRI によるラット、マウスの撮像により脳血管評価が可能となり。マウス慢性進行性脳血管狭窄モデルを作成し日本脳卒中学会にて発表した。またラット脳虚血においてカルシウム拮抗剤のニフェジピンが虚血慢性期の脳血流保持に関与することが IMP を用いた脳血流測定系により明らかになり EPC との関係を解析している。

## 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 8 件)

①Ohta T, Kikuta K, Imamura H, Takagi Y, Nishimura M, Arakawa Y, Hashimoto N, Nozaki K

Administration of ex vivo-expanded bone marrow-derived endothelial progenitor cells attenuates focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *Neurosurgery* 59:679-686,2006

査読:あり

②Kikuta K, Takagi Y, Fushimi Y, Ishizu K, Okada T, Hanakawa T, Miki Y, Fukuyama H, Nozaki K, Hashimoto N

"Target Bypass": A Method for Preoperative Targeting of a Recipient Artery in Superficial Temporal Artery-to-Middle Cerebral Artery Anastomoses.

*Neurosurgery* 59: ONS320-ONS327,2006

査読:あり

③Takagi Y, Kikuta K, Noaki K, Fujimoto M, Hayashi J, Hashimoto N

Neuronal expression of Fas-associated death domain protein and caspase-8 in the perinidal parenchyma of cerebral arteriovenous malformations

*J Neurosurg*106:275-282, 2007

査読:有

④Fushimi Y, Miki Y, Okada T, Yamamoto A, Mori N, Hanakawa T, Urayama S, Aso T, Fukuyama H, Kikuta K, Togashi K

Fractional anisotropy and mean diffusivity: comparison between 3.0-T and 1.5-T diffusion tensor imaging with parallel imaging using histogram and region of interest analysis.

*NMR Biomed*: 743-748, 2007

査読:有

⑤Kikuta K, Takagi Y, Nozaki K, Okada T, Hashimoto N

Histological analysis of microbleed after surgical resection in a patient with moyamoya disease

*Neurol Med Chir (Tokyo)*:564-567, 2007

査読:有

⑥Kikuta K, Takagi Y, Nozaki K, Sawamoto N, Fukuyama H, Hashimoto N

The presence of multiple microbleeds as a

predictor of subsequent cerebral hemorrhage in patients with moyamoya disease.

Neurosurgery62 : 104-111, 2008

査読:有

⑦Mineharu Y, Liu W, Inoue K, Matsuura N, Inoue S, Takenaka K, Ikeda H, Houkin K, Takagi Y, Kikuta K, Nozaki K, Hashimoto N, Koizumi A

Autosomal dominant moyamoya disease maps to chromosome 17q25.3

Neurology70:2357-2363, 2008

査読:有

⑧Kikuta K, Takagi Y, Nozaki K, Hashimoto N

Introduction to tractography-guided navigation: using 3-tesla magnetic resonance tractography in surgery for cerebral arteriovenous malformations

Acta Neurochir Suppl03:11-14, 2008

査読:有

[学会発表] (計 2 件)

①Kikuta K, Hashimoto N

Recent modification on cerebrovascular revascularization surgery in Kyoto University: Technical case reports

The 56rd Congresso Nazionale della Societa Italiana di Neurochirurgica

Roma Italy, June 25, 2007

②Kikuta K, Takagi Y

Effectiveness of target bypass method and ICG angiography in bypass surgery for moyamoya disease

The 4th European-Japanese Joint Conference on Stroke Surgery

Helsinki Finland, June 3, 2008

[図書] (計 1 件)

①菊田健一郎・橋本信夫:

超入門脳血管外科手術:メディカ出版,2008

[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:

出願年月日:

国内外の別:

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊田 健一郎 (KIKUTA KENICHIRO)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号: 9 0 3 3 2 7 2 5

(2) 研究分担者

なし

(3)連携研究者

高橋 淳 (JUN TAKAHASHI)  
京都大学・再生医科学研究所・准教授  
研究者番号：10270779

三木 幸雄 (MIKI YUKIO)  
京都大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：80303824

堤 定美 (TSUTSUMI SADAMI)  
京都大学・再生医科学研究所・教授  
研究者番号：00028739