

平成23年 2月21日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19390460  
 研究課題名（和文） 脈絡叢上衣細胞を用いた内在性神経幹細胞の賦活化  
 —中枢神経損傷治療応用を目指して—  
 研究課題名（英文） Activation of endogenous neural stem cells using choroid plexus epithelial cells aimed at a new therapy for central nervous system injury  
 研究代表者  
 松本 直也（MATSUMOTO NAOYA）  
 大阪大学・医学部附属病院・助教  
 研究者番号：50359808

研究成果の概要（和文）： 培養して増殖させた脈絡叢上衣細胞を，ラット脳梗塞モデルに脳脊髄液内投与をすると，脳梗塞巣の進展が抑制されることを証明した。この機序に，抗炎症作用，抗アポトーシス作用，抗酸化作用が関与していることが明らかとなった。脈絡叢上衣細胞から様々な神経栄養・成長因子が脳脊髄液内に放出され，脳虚血損傷修復に関与しているものと考えられた。また，脈絡叢上衣細胞移植により神経幹細胞が賦活化され，ニューロンへの分化を促進していることがわかった。培養系の実験により，低酸素侵襲そのものが，脈絡叢上衣細胞の持つ脳保護・再生促進作用を引き出すことが示唆された。

研究成果の概要（英文）： We demonstrated that the injection of cultured choroid plexus epithelial cells (CPECs) through cerebrospinal fluid (CSF) suppressed the extension of ischemic brain injury against a rat model of cerebral infarction. Anti-inflammatory, anti-apoptotic and anti-oxidative effects were involved in the neuroprotective mechanisms. It was considered that a variety of neurotrophic and / or growth factors were secreted from the CPECs into the CSF and prevented the ischemic brain injury. In addition, the CPECs transplantation activated neural stem cells, enhancing the neuronal differentiation. In vitro experiments suggested that hypoxic stress itself elicited the ability of CPECs to promote cerebral protection and regeneration.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,000,000	2,100,000	9,100,000
2008年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2009年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急蘇生学

キーワード：脈絡叢，脳脊髄液，細胞移植，脳梗塞，神経保護，神経再生，成長因子

## 1. 研究開始当初の背景

脈絡叢は、側脳室、第3脳室、第4脳室の各脳室内に存在し、脳脊髄液の主たる産生器官である。生物の進化とともに、血液脳関門、血液脳脊髄液関門が構成され、中枢神経系はその他の臓器、循環から独立した空間の中で発達してきた。即ち、中枢神経系は脳脊髄液という特殊な環境下に置かれていることになる。脳脊髄液の存在意義に関して、外力に対するクッションとしての役割や重たい脳を支える浮力としての作用以外の機能は解明されていない。一方で、近年の脳液髄液を用いたプロテオミクス解析により、脳の変性疾患や脳炎・頭部外傷・脳血管障害等の急性疾患においても、脳脊髄液環境が変化していることが明らかとなってきた。

例えば、アルツハイマー病では脳脊髄液中のトランスサイレチン濃度が低い。トランスサイレチンはアミロイドβ蛋白の凝集抑制機能があるが、血液脳関門を通過することはできない。脳において、このトランスサイレチンを特異的に発現する組織が脈絡叢上衣細胞である。実際にアルツハイマー病患者の脈絡叢上衣細胞は、形態学的な変性が認められる。このことは、脈絡叢の機能異常が、脳脊髄液環境を変化させ、中枢神経系機能に影響を与える可能性を示唆している。

変性疾患だけではなく、ラットの実験ではあるが、脳虚血損傷に対して脈絡叢細胞が増殖することが確認されており、脳損傷にตอบสนองして脈絡叢が賦活化される可能性も示されている。我々は今までに、ラット脊髄損傷モデルに対し、脈絡叢を損傷部に直接移植すると軸索再生が促進されることを確認した。また、*in vitro* 下に、海馬ニューロンと脈絡叢上衣細胞を接着性に共培養すると、神経突起伸長や突起数が増加することを明らかにした。この効果は、脈絡叢上衣細胞の培養上清のみの投与でも再現できた。

このように、脈絡叢は単に脳脊髄液産生をしているだけではなく、脳脊髄液中に様々な機能分子を分泌し、中枢神経系の維持を担っていると考えられる。

## 2. 研究の目的

(1) 脈絡叢上衣細胞が、生体において中枢神経系損傷に対して保護的に作用することを確認するために、ラット中大脳動脈閉塞モデルに対して、脳室内に培養下で増殖させた脈絡叢上衣細胞を移植することにより、虚血脳損傷を抑制することができるかを評価した。

(2) 神経幹細胞の存在が示されている脳室下帯は、解剖学的に脈絡叢に隣接する形で存在している。このため、脈絡叢上衣細胞から分泌される液性因子が、内在性神経幹細胞に影響を及ぼしているのではないかと推測し

た。上述のラット脳梗塞モデルに対する脈絡叢上衣細胞移植により、神経幹細胞が賦活化され、神経再生が促進されるかを検討した。

(3) ラット脳梗塞モデルに対する脈絡叢上衣細胞の治療効果を評価するうえで、脈絡叢上衣細胞由来の分泌性因子が直接ニューロンや神経幹細胞に作用しているかを判断することは難しい。*in vivo* 環境においては、移植治療による様々な作用点の総和としての神経保護・再生効果を確認するに終始する可能性があるからである。脈絡叢上衣細胞由来の分泌性機能分子群が、直接的にニューロンや神経幹細胞の機能に影響を及ぼすかを評価するために、*in vitro* 系にアッセイを移し、非接触性の共培養実験を施行した。これにより、ニューロンに対する突起伸長、生存効果、神経幹細胞に対する増殖、分化誘導効果を評価した。

(4) 生体の脈絡叢が、どのような神経保護・再生因子を発現しているかを確認するために、その他の代表的な中枢神経系構成組織と比較しながら、RT-PCR法にて評価を行った。これらの分泌性因子が、移植に用いた培養脈絡叢上衣細胞に発現しているかを、免疫組織化学的に確認した。さらに、脈絡叢上衣細胞が低酸素侵襲にตอบสนองして、神経保護・再生機能を高めている可能性を検証するために、脈絡叢上衣細胞を低酸素環境下で培養し、各種神経栄養・成長因子の遺伝子発現の変動をRT-PCR法により検討した。

## 3. 研究の方法

本研究で評価した実験系は、すべて雄性Wistarラットを用いた解析である。

(1) ラット脳梗塞モデルに対する脈絡叢上衣細胞移植の効果評価

①脳梗塞モデル…脳虚血損傷はフィラメントによる中大脳動脈閉塞(middle cerebral artery occlusion: MCAO)法を選択し、虚血再還流モデルを作成した。ラットは8週齢を使用し、侵襲的操作はすべてペントバルビタールによる深麻酔下で行った。術中は、直腸を測定しながら体温を $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ に維持した。頭蓋骨に直径1mmにて2箇所穿頭した。一つは閉塞を行うMCA領域の大脳皮質における脳血流(CBF)を測定するためであり、他者は脈絡叢上衣細胞を第4脳室に移植するためである。CBFはレーザー・ドップラーにて測定した。大腿動脈にポリエチレン・カテーテルを挿入し、血圧を持続モニタリングするとともに、血液ガス分析のための血液を採取した。頸部を正中切開し、右側の総頸動脈、外頸動脈(ECA)、内頸動脈(ICA)を露出させ、頸動脈分岐部より遠位にて全ての動脈の血流を遮断した上、ECAを切断した。この断端部より、4-0ナイロン糸を挿入し、頸動脈分岐部よりICAへと導き、パラフィンでコーティ

ングされた先端部を MCA 起始部に留置した。この時が MCAO の開始時間である。ECA から挿入したナイロン糸は ECA の断端部で絹糸にて血管の外周から固定し、一部を皮膚から露出する形で頸部を縫合した。再還流は、ECA から挿入したこのナイロン糸を抜去することで行った。

②脈絡叢上衣細胞培養… 4 週齢ラットの側脳室及び第 4 脳室から脈絡叢組織を回収し、ハサミで断片化した後、0.2%プロナーゼでインキュベートした。さらに、20 ゲージ針で解離させ  $4 \times 10^4$  cells /  $\text{cm}^2$  の濃度にて、PLL コートしたデッシュ上で培養を開始した。培養液は 10%血清及び  $20 \mu\text{M}$  Ara-C 含 DMEM とし、5 日目には血清、Ara-C を培養液から除去し、さらに 7 日間培養した細胞を移植実験に用いた。このように培養下で増殖させた脈絡叢上衣細胞 (choroid plexus epithelial cell: CPEC) を、移植前に Hoechst33342 で標識し、0.4%プロナーゼで培養皿から剥離した後、ピペット操作にて単細胞に分離して HBSS にて懸濁した。また移植実験とは別に、脈絡叢から分離培養した細胞群が純粋に CPEC であり、線維芽細胞や血管内皮細胞の混入がないか特異抗体 (Transferrin [CPEC], Thy-1 [線維芽細胞], von Willebrand Factor [vWF]) を用いて免疫組織化学的に評価した。同様に、bFGF, NT-4, HGF, GDNF 等の神経栄養・成長因子群の発現を維持しているかを、免疫組織化学的に確認した。

③細胞移植… MCAO 開始 30 分後に、(1) - ②で用意した CPEC を  $5 \times 10^6$  個 ( $60 \mu\text{l}$ ),  $37^\circ\text{C}$  で暖めた上で、脳定位固定装置を用いて第 4 脳室内に注入した。再還流は、虚血開始から 120 分後に行った。この移植群 (T 群) に対して、コントロール群 (C 群) には CPEC を懸濁した HBSS のみを注入し、シャム群 (S 群) には虚血と細胞移植以外の手術操作を施行した。生理学的パラメータとして、平均動脈圧、 $\text{PaO}_2$ ,  $\text{PaCO}_2$ , pH, CBF を虚血前、虚血開始 5 分後、細胞移植 5 分後、再還流開始 5 分後に測定した。再生評価のため、脳梗塞モデル作成後 2 日目から 7 日間に渡り、連日 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を  $100\text{mg}/\text{kg}$  ずつ腹腔内投与した。

④組織学的評価… CPEC 移植による脳梗塞進展抑制効果を評価するために、MCAO 後 24 時間で脳を回収し、1.5mm の厚さで冠状断連続切片を作成した。TTC 染色を施行の上、2% パラホルムアルデヒド (PFA) で固定し、大脳皮質領域及び線条体領域の染色面積を測定した。脳浮腫効果を補正した障害側の梗塞容量を、対側の領域容量で割って梗塞出現比率を算出した。また、MCAO 後 24 時間後に、ラットを 4%PFA にて還流固定し、クリオスタットを用いて  $10 \mu\text{m}$  厚の冠状断凍結切片を作成した。この凍結切片を用いた免疫組織化学

的検索により、炎症細胞の浸潤を抗 OX-42 抗体にて評価した。同様に、アポトーシスの評価を、TUNEL 染色、抗 cleaved caspase-3 抗体を用いて評価した。TO-PRO-3 で全細胞の核を対比染色し、Bregma から 0.5mm 尾側切片における大脳皮質のアポトーシス細胞出現率を算出した。

また、CPEC 移植治療による再生効果評価のため、MCAO 後 14 日及び 28 日目の脳の凍結切片を同様に作成した。抗 BrdU 抗体と共に、それぞれ神経幹細胞のマーカーである Nestin、移動能を有する神経前駆細胞のマーカーである Doublecortin (DCX)、成熟ニューロンのマーカーである Neu の抗体を用いて二重染色を施行し、脳虚血損傷にตอบสนองして出現する神経幹細胞、分化誘導されるニューロンを評価した。また、28 日後の脳切片に対してはトルイジン・ブルー染色を行い、脳実質に生じる空洞を計測した。

⑤分子生物学的評価… MCAO24 時間後に、MCA 領域の大脳皮質を分離回収し、total RNA を抽出した。RT-PCR により、 $\beta$ -actin の発現を対照として、bcl-2, CREB, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , iNOS の発現を評価した。

⑥行動学的評価… Bederson らによる Neurological Severity Score (NSS) [0: 神経学的異常なし, 1: 左前足伸展障害, 2: 側方圧迫に対する抵抗性減弱, 3: 回旋運動, 4: 左側への転倒, 5: 無動] にて点数化し、群間で治療効果を評価した。

(2) 神経細胞と脈絡叢上衣細胞との共培養実験

①海馬ニューロンの培養… 生後 1 日目の海馬を分離し、トリプシンを加えて先端を狭小化したパスツールピペットで分離し、24well plate 内に留置した PLL コート・カバーガラス上で培養した。

②脈絡叢上衣細胞との共培養… あらかじめ membrane 上に培養した CPEC の transwell カセットを上記海馬培養系に装着し、10%FBS 含 Neurobasal medium (NB) で共培養を行った。24 時間後に、神経突起の長さ、神経突起の数を測定した。これとは独立して、ニューロンを 10%FBS 含 NB 下で一日培養した上、さらに二日間 B-27,  $500 \mu\text{M}$  グルタミン、 $10 \mu\text{M}$  Ara-C 含 NB で培養し、その上で CPEC との共培養をアルブミン、インシュリン、トランスフェリン含 Waymouth' s MB 752/1 培養液下に行った。共培養開始 4 日後に、TUNEL 染色にてアポトーシス細胞の出現率を測定した。いずれのアッセイにおいても、CPEC を乗せた transwell を挿入しないニューロン単独培養をコントロールとした。

(3) 神経幹細胞と脈絡叢上衣細胞との共培養実験

①神経幹細胞の培養… 生後 5 日目のラット脳室下帯を分離し、トリプシンを用いて単

細胞に分離した後、bFGF、EGE、B27、ヘパラン硫酸含 DMEM/F12 下にて、浮遊培養を行った。7 日目ごとに、neurosphere を単細胞に分離して継代し、第 3 世代のものを以下の脈絡叢上衣細胞との共培養実験に使用した。

② 脈絡叢上衣細胞との共培養… neurosphere を単細胞に分離後、bFGF、EGE、B27、ヘパラン硫酸含 DMEM/F12 下に CPEC を有する transwell を装着して浮遊培養を行った。5 日目に neurosphere を回収して、細胞数をカウントした。分化誘導実験においては、transwell 装着時に、1%FBS 含 DMEM/F12 下で、カバーガラス上において単細胞分離化した神経幹細胞を 4 日間培養した。いずれのアッセイにおいても、transwell を挿入せずに培養したものをコントロール群とした。カバーガラスを取り出して、特異抗体（抗  $\beta$  tubulin-III 抗体 [ニューロン]、抗 GFAP 抗体 [アストロサイト]）を用いて免疫染色化学的に検索し、分化した細胞の割合を、TO-PRO-3 による対比染色を元に算出した。

#### (4) 脈絡叢における遺伝子発現解析

8 週齢ラットの脈絡叢、大脳皮質、海馬、小脳を分離し、それぞれ total RNA を抽出した。 $\beta$ -アクチンの発現量を基準に、代表的な神経栄養・成長因子である NBF, BDNF, NT-3, NT-4, CNTF, GDNF, HGF, aFGF, bFGF, IGF-I, IGF-II の発現を半定量的に各組織間で比較検討した。また、(1) - ②の方法で培養した脈絡叢上衣細胞を、24 時間低酸素下にて培養し、total RNA を抽出した。正常酸素下で培養したものをコントロール群とし、低酸素侵襲による上述の各種神経栄養・成長因子の発現の変化を、HIF-1 $\alpha$  の発現と共に、半定量的に評価した。

## 4. 研究成果

### (1) in vivo 実験

① 脳梗塞・細胞移植モデルにおける生理学的パラメーター… 平均動脈圧、PaO<sup>2</sup>、PaCO<sup>2</sup>、pH、CBF のいずれのパラメーターも、虚血前、虚血開始 5 分後、細胞移植 5 分後、再還流開始 5 分後において、C 群と T 群との間に有意差は認めなかった。いずれの群も、MCAO により CBF が著明に低下し、再還流により CBF が 80%前後まで改善していることを確認できた。細胞移植による CBF への影響は認められなかった。また、麻酔、虚血、移植による平均動脈圧、PaO<sup>2</sup>、PaCO<sup>2</sup>、pH の変動も認められなかった。

### ② 脳梗塞に対する CPEC 移植治療効果…

a) ラット MCAO30 分後に第 4 脳室内に CPEC を移植し MCAO 後 120 分後に再還流したところ、TTC 染色による解析上、24 時間後の脳梗塞巣の進展が、C 群に比し、大脳皮質、線条体両者において有意に抑制されていることが明らかとなった。特にその効果は、線条体

よりも大脳皮質において著明であった（大脳皮質：68.9 $\pm$ 3.8% vs. 34.6 $\pm$ 7.0%，線条体：78.9 $\pm$ 2.0% vs. 58.5 $\pm$ 2.7%，いずれも  $P < 0.01$ ）。また、MCAO 後 24 時間の NSS は、C 群に比し T 群で有意にスコア値が低かった（3.57 $\pm$ 0.27 vs. 2.43 $\pm$ 0.34， $P < 0.05$ ）。このことより、CPEC 移植治療は、組織学的だけではなく、行動学的にも脳虚血損傷に対する保護機能を発揮していることが明らかとなった。

b) MCAO 後 24 時間の大脳皮質において、TUNEL 陽性細胞、cleaved caspase-3 陽性細胞が著明に増加したが、CPEC 移植治療によってこれらの細胞の出現が抑制された。RT-PCR 法での遺伝子発現の解析により、MCAO 後 24 時間の MCA 支配領域の大脳皮質において、bc1-2、CREB の発現が C 群に比し T 群で有意に上昇していることが明らかとなった。これらの結果は、CPEC 移植治療が、抗アポトーシスシグナルを増強させ、少なくともカスパー 3 経路を抑制して細胞死を防いでいることを示している。

c) MCAO により脳梗塞巣、さらには側脳室内の脈絡叢における OX-42 陽性細胞が大量に出現したが、T 群ではこれらの炎症細胞の出現が軽減された。RT-PCR の解析においても、MCAO24 時間後の大脳皮質における IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  の発現が C 群に比し T 群で有意に抑制されていた。即ち、CPEC 移植治療の治療効果の一つとして抗炎症作用を有することが示された。さらには、同様に RT-PCR の実験により、CPEC 治療により iNOS の発現も抑制されており、抗酸化ストレス作用も発揮していると推測された。

d) 移植された CPEC を、あらかじめ Hoechst33342 で標識して解析したが、MCAO24 時間後には、主に細胞注入場所である第 4 脳室内に、そして一部側脳室内に内在する脈絡叢上衣細胞に付着して存在していた。その他、脳底部や脳幹周囲の軟膜に接する形で認められたが、脳梗塞巣内および脳表を含めた近傍には移植細胞は同定されなかった。このことから、移植された CPEC の脳保護効果は脳梗塞巣に対して遠隔的に作用したと考えられた。即ち、移植された CPEC より分泌された機能分子が経脳脊髄液的に脳梗塞巣へ拡散され、抗アポトーシス・抗炎症・抗酸化ストレス作用を發揮したものと考察した。

e) MCAO 後 14 日目の脳切片標本において、C 群に対して T 群では、側脳室周囲帯における BrdU(+) / Nestin (+) 細胞及び BrdU(+) / DCX (+) 細胞のいずれもが増加していた。また、28 日後には、脳梗塞巣周囲において、BrdU(+) / NeuN (+) 細胞が数は少ないが、T 群において観察された。脳虚血損傷に付随する慢性期の空洞形成は、C 群に比し T 群で有意に抑制されていた。CPEC 移植治療は、脳虚

血損傷に対して超急性期に脳保護作用を發揮するだけでなく、その後に引き続き脳再生作用も促進しているものと考えられた。

#### (2) in vitro 実験

①培養脈絡叢上衣細胞の性状… 免疫組織化学的検索上、培養細胞の95%以上が、脈絡叢上衣細胞に特異的なマーカーであるTransthyretinを発現していた。また、脈絡叢構成細胞である線維芽細胞及び血管内皮細胞のマーカーであるThy-1, vWFの発現は認められなかった。この培養系において、CPECにNT-4, GDNF, HGF, bFGFが発現していることが各抗体による免疫染色で確認された。

②ニューロンと脈絡叢上衣細胞との共培養… 共培養開始24時間後のニューロンにおける主神経突起の長さ ( $26.8 \pm 0.7 \mu\text{m}$  vs.  $35.9 \pm 1.0 \mu\text{m}$ ), 一細胞体から出ているすべての神経突起の長さの合計 ( $61.2 \pm 2.4 \mu\text{m}$  vs.  $106.0 \pm 3.6 \mu\text{m}$ ), 一細胞体から出ている神経突起の数 ( $2.29 \pm 0.07$  vs.  $2.95 \pm 0.08$ ), 及び主神経突起から分岐する枝の数 ( $0.30 \pm 0.02$  vs.  $0.13 \pm 0.02$ ) のいずれも、コントロール群に比し、共培養群で有意に増加していることが示された。また、共培養開始後4日目において、光顕レベルで神経ネットワークが発達していることが明らかであったが、コントロール群に比し、共培養群でTUNEL陽性細胞が有意に減少していることが明らかとなった ( $12.0 \pm 4.5\%$  vs.  $61.4 \pm 5.9\%$ )。以上より、脈絡叢上衣細胞由来の分泌性因子が、ニューロンの突起伸長作用、細胞死抑制作用を有していると考えられた。

③神経幹細胞と脈絡叢上衣細胞との共培養… 共培養におけるneurosphere形成実験においては、神経幹細胞単独で培養する時に比べてCPECと共培養した場合、神経幹細胞の細胞数が2.51±0.83倍に増殖していた。一方、神経幹細胞の神経系細胞への分化誘導実験において、共培養によりニューロン、アストロサイトのいずれも、絶対数に関しては増加を認めたものの、CPECがない群とCPECと共培養した群の間には、ニューロン ( $16.1 \pm 0.8\%$  vs.  $22.7 \pm 1.6\%$ ) 及びアストロサイト ( $47.4 \pm 1.5\%$  vs.  $45.3 \pm 1.1\%$ ) への分化誘導率に有意差を認めなかった。このことは、脈絡叢上衣細胞由来の分泌性因子が、神経幹細胞の増殖を促進し、分裂に至るまでの生存を促進するが、ニューロンやアストロサイトへの分化誘導の比率には影響を与えていないことを示している。

(3) RT-PCRによる神経栄養・成長因子発現の解析

①生体脈絡叢… ラット生体組織から抽出したtotal RNAをテンプレートに、代表的な神経栄養・成長因子群の発現をRT-PCRにより半定量的に解析したところ、大脳皮質、海

馬、小脳に対して脈絡叢において

a) 比較的多い—NGF, HGF

b) 非常に多い—NT-4, GDNF, bFGF, IGF-1, IGF-II

c) 少ない—BDNF, NT-3, CNTF, aFGF

という結果になった。

②培養脈絡叢上衣細胞の低酸素侵襲応答… CPECを低酸素下に培養すると、正常酸素下で培養した群に比し、HIF-1 $\alpha$ の遺伝子発現が増強すると共に、検索範囲内ではNBF, BDNF, GDNF, HGF, bFGF, IGF-I, IGF-IIの発現の上昇が認められた。脈絡叢は、元々中枢神経の維持のために各種の神経栄養・成長因子を発現して脳脊髄液中に分泌しており、侵襲に応答して、中枢神経保護・再生のためにこれらの発現が増強されるのではないかと考察した。

#### (4) まとめ

本研究により、脳虚血損傷に対し脈絡叢上衣細胞を経脳脊髄液的に移植すると、脳保護・再生が促進することが明らかとなった。in vitroの共培養実験により、脈絡叢上衣細胞の分泌性因子が、ニューロンの生存、神経幹細胞の増殖に関与していることが示された。脈絡叢上衣細胞は、様々な神経栄養・成長因子を分泌し、中枢神経系を維持していると考えられる。今後、各種中枢神経系疾患における脈絡叢の機能を評価していく必要がある。将来的には、脈絡叢をターゲットとした治療戦略の進展が望まれる。

#### 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9件)

① Noguchi K., Matsumoto N., Shiozaki T., Tasaki O., Ogura H., Kuwagata Y., Sugimoto H., and Seiyama A.: Effects of timing and duration of hypothermia on survival in an experimental gerbil model of global ischemia. Resuscitation 2011, in press (査読有)

② Matsumoto N., Taguchi A., Kitayama H., Watanabe Y., Ohta M., Yoshihara T., Itokazu Y., Dezawa M., Suzuki Y., Sugimoto H., Noda M., and Ide C.: Transplantation of cultured choroid plexus epithelial cells via cerebrospinal fluid shows prominent neuroprotective effects against acute ischemic brain injury in the rat. Neurosci. Lett. 2010; 469: 283-288 (査読有)

③ Sonoi H., Matsumoto N., Ogura H., Hosotsubo H., Noguchi K., Kuwagata Y., and Sugimoto H.: The effect of

antithrombin on pulmonary endothelial damage induced by crush injury. Shock 2009; 32: 593-600 (査読有)

④ Ide C., Dezawa M., Matsumoto N., and Itokazu Y.: Regeneration (synopsis). Encyclopedic Reference of Neuroscience 2009; 3: 3403-3409 (査読有)

⑤ 酒井智彦, 田崎 修, 松本直也, 鶴飼 勲, 別宮豪一, 高橋幸利, 杉本 壽: フェノバルビタール大量療法が奏功したと考えられる痙攣重積症例の1例. 日本救急医学会雑誌 2009; 20: 258-264 (査読有)

⑥ 松本直也, 小川尚子, 松嶋麻子, 田中 裕, 京力深穂, 霜田 求: 重症脳出血を発症した慢性透析患者に対する透析の是非が問われた症例. 救急医学 2009; 33: 239-244 (査読有)

⑦ 河野美樹, 松本直也, 三善陽子, 田崎 修, 塩崎忠彦, 鎌方安行, 杉本 壽: 重症頭部外傷に伴い、汎下垂体機能不全症を呈した1例. 神経外傷 2008; 31: 67-71 (査読有)

⑧ Muraguchi T., Takegami Y., Ohtsuka T., Kitajima S., Chandana EP., Omura A., Miki T., Takahashi R., Matsumoto N., Ludwig A., Noda M., and Takahashi C.: RECK modulates Notch signaling during cortical neurogenesis by regulating ADAM10 activity. Nat. Neurosci. 2007; 10: 838-845 (査読有)

⑨ Yoshihara T., Ohta M., Itokazu Y., Matsumoto N., Dezawa M., Suzuki Y., Taguchi A., Watanabe Y., Adachi Y., Ikehara S., Sugimoto H., and Ide C.: Neuroprotective effect of bone marrow-derived mononuclear cells promoting functional recovery from spinal cord injury. J. Neurotrauma. 2007; 24: 1026-1036 (査読有)

[学会発表] (計8件)

① 杉本慈子: 痙攣重積型脳症と類似する特徴的な画像経過を示した小児意識障害の一例. 第37回日本救急医学会(盛岡)2009年10月29日

② 田崎 修: 神経外傷を伴う多発外傷患者の治療ストラテジー 頭部・脊髄損傷を伴う多発外傷患者の治療戦略 頭部外傷を伴う多発外傷の予後に関する検討. 第23回日本外傷学会(大阪)2009年5月28日

③ 千葉泰良: 小児重症頭部外傷患者の予後予測に対するDTIの有効性. 第37回日本小児神経外科学会(大阪)2009年6月11日

④ 西田 誠: 頭部外傷後に自律神経障害・筋硬直を来した一例. 第36回日本救急医学会(札幌)2008年10月14日

⑤ Sonoi H.: Crush injury induces systemic

inflammation: the effect of antithrombin III. the 67th The American Association for the Surgery of Trauma Meeting (Maui, USA): 27<sup>th</sup> Sep, 2008

⑥ 早川航一: 蘇生後低酸素脳症患者の治療最前線 蘇生後脳症の予後および予後規定因子 ウツタイン大阪プロジェクト. 第21回日本脳死・脳蘇生学会(大阪)2008年5月9日

⑦ 松本直也: 救急医療における再生医療 脈絡叢を用いた中枢神経保護・再生治療. 第35回日本救急医学会(大阪)2007年10月17日

⑧ Matsumoto N.: A new strategy for neuroprotection in ischemic brain injury - Transplantation of CP epithelial cells into th CSF. The 7<sup>th</sup> Cerebral Vascular Biology International Conference (Ottawa, Canada): 26<sup>th</sup> June, 2007

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松本 直也 (MATSUMOTO NAOYA)  
大阪大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号: 50359808

### (2) 研究分担者

杉本 壽 (SUGIMOTO HISASHI)  
大阪大学・医学系研究科・名誉教授  
研究者番号: 90127241  
鎌方 安行 (KUWAGATA YASUYUKI)  
大阪大学・医学系研究科・准教授  
研究者番号: 50273678  
小倉 裕司 (OGURA HIROSHI)  
大阪大学・医学系研究科・講師  
研究者番号: 70301265  
塩崎 忠彦 (SHIOZAKI TADAHIKO)  
大阪大学・医学系研究科・助教  
研究者番号: 60278687  
田崎 修 (TASAKI OSAMU)  
大阪大学・医学系研究科・助教  
研究者番号: 90346221

### (3) 連携研究者

井出 千束 (IDE CHIZUKA)  
藍野大学・医療保健学部・教授  
研究者番号: 70010080