

平成 21 年 6 月 9 日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2007～2008
課題番号：19790617
研究課題名 (和文) 慢性脳虚血におけるオリゴデンドロサイトの再生と機能回復の役割に関する研究
研究課題名 (英文) The role of regeneration of oligodendrocyte for functional recovery after chronic cerebral hypoperfusion.

研究代表者
田中 亮太 (TANAKA RYOTA)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号：40407284

研究成果の概要：

多発性脳梗塞や認知症の増悪因子である白質病変の病態，再生のメカニズムについてラット慢性脳虚血モデルを用い解析した．慢性脳虚血状態ではオリゴデンドロサイト(オリゴ)が一過性に新生し組織修復に傾くが、長期的には成熟することができずに細胞死を起こす．そのため脱髄病変が進行することが確認された．オリゴの生存と成熟を促進する薬剤を用い，慢性脳虚血での白質病変の再生能を応用した新しい治療の可能性について検討を行った．

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	0	1,500,000
2008年度	1,400,000	0	1,400,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	0	2,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：オリゴデンドロサイト，前駆細胞，慢性脳虚血，再生医療，PDGFR- α

1. 研究開始当初の背景

大脳白質病変は脳虚血性病変や多発性硬化症に見られる中枢神経病変であるが，最近では本邦でも増加が指摘されている認知症に多くみられ，その増悪因子となること

も明らかにされている．この白質病変形成のメカニズムに関する研究は数多く行われており，各々の病態に対する細胞保護を目指した研究も報告されている．近年成体の脳においても一部の脳領域では神経細胞が新生していることが明らかにされており，脳疾患

に対する再生医療の研究も盛んに行われている。しかしながら慢性脳虚血における白質再生や組織修復に関する研究は行われておらず、明らかにされていない。

2. 研究の目的

ラット慢性脳虚血モデル（両側総頸動脈永久閉塞モデル）を用い白質病変の再生能の評価と白質病変進展のメカニズムを検討する。さらには再生能を促進する薬剤などを用いることによって組織修復の可能性について評価。またヒトの脳虚血による白質病変においても再生能について検討する。

(1) ヒト脳における白質病変における再生能の評価

PCNA, PDGFR- α などの抗体を用い、免疫組織学的に組織再生能を検討。

(2) ラット慢性脳虚血における白質での細胞新生能についての評価

BrdU 腹腔内投与し白質で新生する細胞の標識と生存能についての評価を行う。BrdU 標識された新生した細胞について各種抗体を用いて解析。

(3) PDE3 inhibitorの投与により白質での新生細胞の生存と成熟の促進効果について検討。

経口投与にて PDE3 inhibitor 投与。

(4) レトロウイルスにおける新生オリゴ前駆細胞の標識と分化能についての検討

ステレオ装置を用い GFP 標識レトロウ

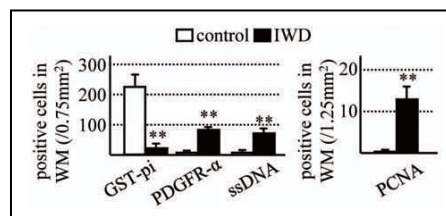
イルスを脳内に投与。

(5) PDE3 inhibitor の効果について PKA/PKC inhibitor を用いた阻害実験で確認する。

PKA/PKC inhibitor(H7)を脳室内投与し検討。

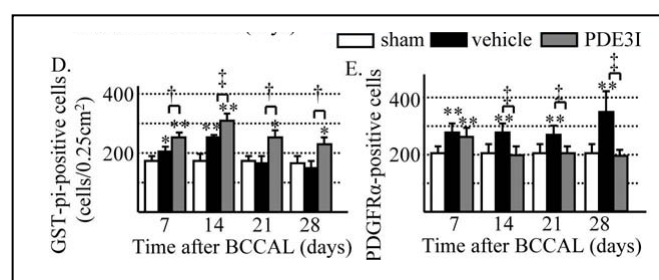
4. 研究成果

(1) インフォームドコンセントを取得して得られた解剖脳の内、白質病変を伴った血管性認知症の脳と白紙病変を伴わない対照脳を比較検討した。



コントロール群に比し、白質病変を持つグループでは成熟オリゴデンドロサイト (GST- π) が有意に減少し、一方でオリゴ前駆細胞 (PDGFR- α) と細胞増殖を示す細胞 (PCNA) の数が有意に増加していた。以上からヒトの虚血性白質病変においてもオリゴ前駆細胞が増加し、何らかの再生、組織修復に働いている可能性が示唆された。

(2) ラット両側総頸動脈永久閉塞モデルを用いた。白質障害は時間経過とともに進展した。

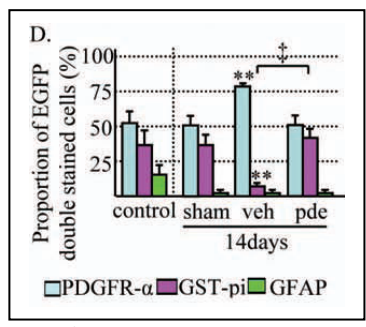


成熟オリゴ (GST- π), オリゴ前駆細胞 (PDGFR- α) のマーカーを用い sham 群, vehicle 群, PDE3I 投与群での cell count を行い評価した. 上記の通り虚血群 (vehicle 群) では sham 群より成熟オリゴが一過性に増加した後減少し, オリゴ前駆細胞は sham 群, PDE3I 群に比し増加していることが確認された. PDE3I 群ではオリゴ前駆細胞は一過性に増加した後, sham 群と同程度認められた. 成熟オリゴデンドロサイトは sham 群, vehicle 群に比し有意に増加しているのが確認された.

BrdU-other Double positive cells ratio of 14→21d group			
	PDGFR α	GST-pi	GFAP
sham	35.2 \pm 2.5	54.2 \pm 1.1	0.7 \pm 1.0
vehicle	60.3 \pm 2.0**	44.3 \pm 3.2**	1.4 \pm 0.5
PDE3I	43.2 \pm 3.1‡	61.3 \pm 5.0‡	1.1 \pm 0.6

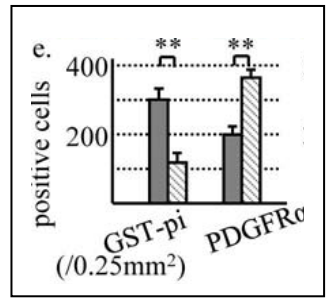
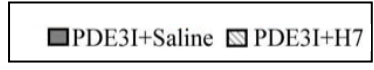
さらに, BrdU と各種グリア細胞のマーカーとの 2 重染色で比較しても上記と同様の結果が得られた. これらから慢性脳虚血状態では白質病変の修復・再生機序が働くが, 一過性であり, PDE3I の投与によって新生オリゴ前駆細胞の生存・分化が促進されることが確認できた.

(3) GFP を標識タンパクとしたレトロウイルスを用い, 新生する白質のオリゴ前駆細胞ラベルを試み, 分化・成熟能について検討した.



BrdU のデータと同様な結果が得られ, PDE3I を投与した群では GFP 陽性新生オリゴデンドロサイトが形態的にもより成熟しており, それらは MBP をより多く発現していた. これらから慢性能虚血における白質での組織再生・修復において PDE3I が積極的に関与することが示唆された.

(4) PKA/PKC 阻害剤(H7)を用い, PDE3I の効果を確認した.



H7 投与群では分化・成熟が抑制されることが確認され, PDE3I が PKA/PKC の系を介し新生オリゴ前駆細胞の生存と分化・成熟を促進していることが確認できた.

これらの結果からヒトを含めた成体の脳白質病変ではオリゴ前駆細胞が増殖し, 組織修復に働いている可能性が

示唆された。また PDE3I がオリゴ前駆細胞の生存・成熟を促進することで、白質の修復・再生を促進することを確認でき、白質病変に対する新たな治療戦略を考慮するうえで示唆に富む結果であった。

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 0 件)

[学会発表] (計 3 件)

(1)Miyamoto N et al.

“Oligodendrogenesis after chronic cerebral hypoperfusion in rat”
6th World Stroke Congress,
2008.9.24, Vienna, Austria

(2)Miyamoto N et al.

“Oligodendrogenesis after chronic cerebral hypoperfusion in rat”
米国国際脳卒中会議(ASA), 2008.2.21., 米国ニューオーリンズ

(2) Tanaka R et al.

“Oligodendrogenesis after chronic cerebral hypoperfusion in rat”
第2回 Asian stroke forum, 2007.9.27, 韓国(済州島)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1)研究代表者

田中 亮太 (TANAKA RYOTA)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号：40407284

(2)研究分担者

(3)連携研究者