

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19791032
 研究課題名（和文） クロマチン制御による神経幹細胞のニューロンへの分化誘導と損傷脊髄再生治療への応用
 研究課題名（英文） Mechanisms for neuronal differentiation of neural stem cells induced by chromatin remodeling, and its application for regenerative therapy of spinal cord injury
 研究代表者
 あべ松 昌彦 (ABEMATSU MASAHIKO)
 奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・研究員
 研究者番号：70448190

研究成果の概要：脊髄損傷モデルマウスに対し、神経幹細胞移植にバルプロ酸投与を併用し、その治療効果と治療メカニズムについて詳細な検討を行った。その結果バルプロ酸投与により、移植した細胞のニューロン分化が促進され、宿主の神経細胞とシナプスを形成していることが分かった。錐体路のトレーシング実験では、移植した神経細胞が損傷した神経回路をリレーするように再建している様子が観察された。移植細胞を特異的に除去すると、一度改善した運動機能が再度悪化することからも、移植細胞が直接的に損傷脊髄の再建に貢献していることが推察された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	2,900,000	0	2,900,000
20年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	150,000	3,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学

キーワード：脊椎脊髄病学

1. 研究開始当初の背景

現在の医療において、損傷した中枢神経系の再建は困難であり、悪化した麻痺症状は不可逆的であると言われている。これまでに脊髄損傷モデル動物に対し、神経幹細胞移植による治療効果を評価した報告があるが、その治療効果は僅かで、治療効果を発揮するメカニズムは明らかにされていない状況であった。

そのような状況において、我々はヒストン脱アセチル化酵素阻害作用があることが最近明らかとなったバルプロ酸に神経幹細胞のニューロン分化促進作用およびグリア細胞への分化抑制作用があることを発見した(2004. *PNAS*)。この現象を応用し、損傷脊髄に移植した神経幹細胞をバルプロ酸でニューロンへと分化促進させることにより新

たなニューロンを補充し、損傷したニューロンネットワークを再建することで下肢運動機能改善を目指す、本研究内容を着想するに至った。

2. 研究の目的

再生治療を将来臨床応用する上で、治療の安全性は何よりも優先されなければならない。これまで、脊髄損傷モデルマウスを用いた基礎研究が行われてきたが、治療効果が得られる報告においても、その作用メカニズムについて詳細に検討されているものは非常に少ない。

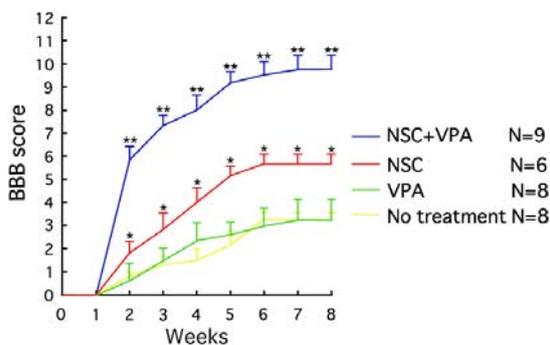
将来臨床応用することを前提に、我々は脊髄損傷モデルマウスに対する、これまでにない新しい治療法を開発し、そのメカニズムを明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

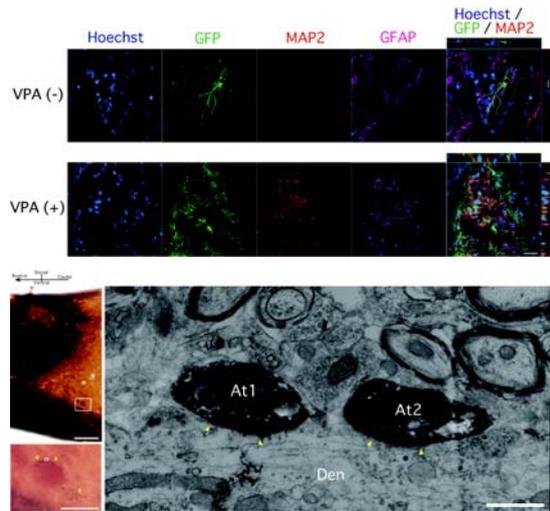
脊髄損傷モデルマウスに胎仔由来神経幹細胞移植とバルプロ酸投与を併用し、14週間下肢運動機能評価を行った。移植後1週、5週後の脊髄を免疫染色し、蛍光顕微鏡および電子顕微鏡で分化傾向やシナプス形成能を観察した。損傷した神経系と移植細胞由来ニューロンとの関係を調べるために、移植後13週目に2種類のトレーサーを大脳皮質運動野に注入して2週後に免疫染色で評価した。移植細胞が下肢運動機能の改善に直接的に貢献しているかを調べるために、TRECK法とIn vivo imaging法を組み合わせたシステムを確立した。宿主が生きたま移植細胞を観察しながら移植後6週目、特異的に移植細胞だけを除去して下肢運動機能の変化を観察した。

4. 研究成果

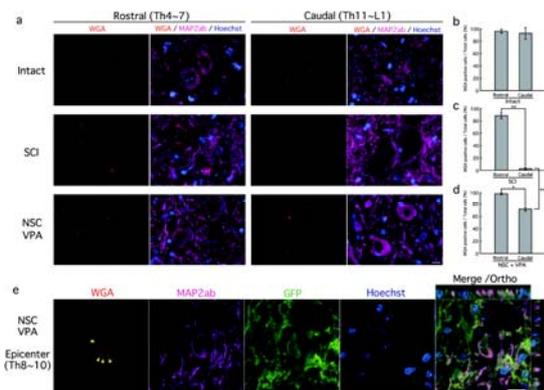
神経幹細胞移植とバルプロ酸を併用した群では、コントロール群と比較して著明な運動機能の改善が観察された。(下図青線)



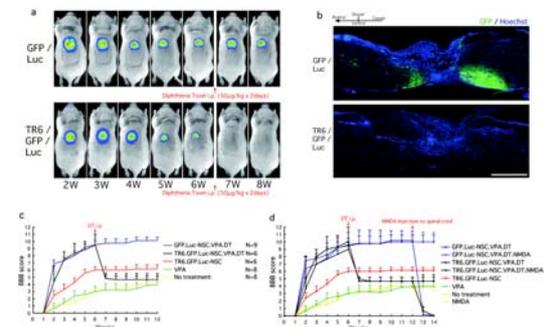
バルプロ酸投与により、移植した細胞のニューロン分化が促進され(下図写真パネルMAP2)、宿主の神経細胞とシナプスを形成していることが分かった。(下図写真パネルDen: dendrite, At: axon terminal)



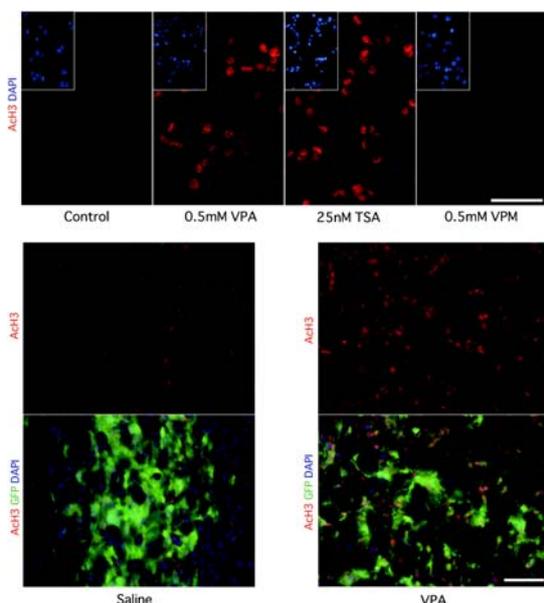
投射先の2次、3次ニューロンをラベル出来るWGAを用いた錐体路のトレーシング実験では、移植した神経細胞が損傷した神経回路をリレーするように再建している様子が観察された。(下図)



移植細胞を特異的に除去すると、一度改善した運動機能が再度悪化することからも、移植細胞が直接的に損傷脊髄の再建に貢献していることが推察された。(下図黒線)



この研究では移植細胞をエピジェネティックな制御により分化誘導することで(下図)、これまでにない良好な治療効果を得ること



ができた。

これまでに、いくつかの学会において現在までの研究成果を発表し、大きな反響を得られた。

今回開発したこの治療法は遺伝子導入などを必要としない神経幹細胞分化制御を可能としているため、安全性が高く神経系疾患の新規治療法開発などの応用面においても極めて重要な意義を持つことが期待される。

今後は iPS 細胞由来神経幹細胞とバルプロ酸を組み合わせた治療法の確立、特定のニューロンサブタイプへの分化制御、損傷したニューロンネットワークのより正確な再建を目指した研究を進め、より高い治療効果と安全性を得ることで本治療法の臨床応用を目指したい。

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4件)

① Shinji Fukuda¹, Masahiko Abematsu², Hiroyuki Mori³, Makoto Yanagisawa¹, Tetsushi Kagawa⁴, Kinichi Nakashima⁵, Akihiko Yoshimura⁶, Tetsuya Taga⁷.

Potentiation of astrogliogenesis by STAT3-mediated activation of bone morphogenetic protein-Smad signaling in neural stem cells.

Molecular and Cellular Biology. American Society for Microbiology. 27(13) : 4931-37. 2007 (査読あり)

② Masakazu Namihira¹, Jun Kohyama¹, Masahiko Abematsu² and Kinichi Nakashima³

Epigenetic mechanisms regulating fate specification of neural stem cells

Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences. Royal Society Publishing. 363(1500) : 2099-109. 2008 (査読あり)

③あべ松昌彦

神経幹細胞による脊髄再生医療

関節外科, メジカルビュー社, 26(12) : 115-116. 2007 (査読無し)

④あべ松昌彦, 中島欽一

バルプロ酸の持つ新たな薬理作用～神経幹細胞の増殖・分化制御～

日本薬理学雑誌, 金芳堂, 131 : 391. 2008 (査読あり)

[学会発表] (計4件)

①あべ松昌彦

ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤による神経幹細胞分化制御と損傷脊髄再生治療への応用 (口頭、査読あり) 第6回成体脳のニューロン新生懇談会 東京都 2007年2月

②あべ松昌彦, 辻村啓太, 神山淳, 波平昌一, 中島欽一

バルプロ酸による神経幹細胞分化制御と脊髄損傷再生治療への応用 (ポスター、査読あり) 第5回幹細胞シンポジウム 兵庫県 2007年5月

③あべ松昌彦, 辻村啓太, 神山淳, 波平昌一, 瀬戸口啓夫, 米和徳, 小宮節郎, 五十嵐勝秀, 菅野純, 中島欽一

ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤バルプロ酸による神経幹細胞分化制御機構の解明と損傷脊髄再生治療への応用 (口頭、査読あり) 第28回日本炎症・再生医学会 東京都 2007年8月

④あべ松昌彦, 辻村啓太, 神山淳, 波平昌一, 瀬戸口啓夫, 井尻幸成, 米和徳, 小宮節郎, 五十嵐勝秀, 菅野純, 中島欽一

ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤バルプロ酸による神経幹細胞分化制御と損傷脊髄再生への応用

(口頭、査読あり) 第8回運動器科学研究会 徳島県鳴門市 2007年8月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

あべ松 昌彦 (ABEMATSU MASAHIKO)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・研究員

研究者番号 : 70448190

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：