

## 自己評価報告書

平成23年 5月 2日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2008～2011

課題番号：20249063

研究課題名 (和文) 脳虚血後の神経再生・炎症・遺伝子治療に関する総合的研究

研究課題名 (英文) Comprehensive analysis of neuronal regeneration, inflammation and gene therapy for post-ischemic insult by using experimental stroke models

研究代表者 齊藤 延人 (SAITO NOBUHITO)  
東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：60262002

研究分野：脳神経外科学

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：脳虚血、神経再生、炎症、プロテオミクス、幹細胞

## 1. 研究計画の概要

本研究では、脳虚血後の神経再生や炎症の病態を解明し、治療法を開発することを目的として、複数の脳虚血動物実験モデルを用いて総合的研究を行う。

- (1) 独自のミニブタラクナ梗塞モデルを用いて神経幹細胞移植の効果を検証する。神経細胞の再生ではなく、ミエリンや軸索の再生を目指す点がユニークである。移植細胞を磁性体でラベルすることにより、MRにより宿主脳における移植細胞の振る舞いを検証する。
- (2) 脳虚血後の脂質・タンパク発現の変化をオミクス解析により網羅的に検討する。また、これまでの研究の発展型として CyCAP や MKP-1 などの炎症関連タンパクに注目する。神経再生と炎症反応の関連性を考慮しながら、その分子メカニズムへの糸口をつかむ。
- (3) 低酸素状態の細胞における重要な転写調節因子である HIF1 とその下流の分子群に注目し、HIF1 トランスジェニックラットを用いて解析する。また HIF1 による神経再生や虚血耐性の増強効果を検証する。
- (4) 独自に開発している新型ヘルペスウイルスベクターが神経系への遺伝子導入方法として優れ、治療目的ベクターとして使用可能かを検証する。また、これを用いた EGF/FGF 遺伝子導入により、遅発性神経細胞死後の神経再生を促進できるかを検証する。

## 2. 研究の進捗状況

- (1) ミニブタラクナ梗塞モデルにおける移植実験

脳室壁より神経幹細胞を分離し、培養した移植細胞を超磁性酸化鉄粒子造影剤 (フェルモキシデス) にて標識した。ミニブタ脳へ標識した細胞塊の移植し、MR で観察し、組織学的に評価を行った。

## (2) 脳虚血後海馬神経細胞におけるオミクス解析

ラットでの全脳虚血モデルを使用して、遅発性神経細胞死の機序を明らかにする目的で、脂質やタンパク質の変化を、オミクス解析にて網羅的に調べる。海馬 CA1 における脂質とタンパク質の経時的な変化を imaging mass spectrometry でプロファイリングすることにより、遅発性神経細胞死に関する仮説形成推理を行い、検証する。ラット全脳虚血モデルの再現性を検討している段階である。

(3) HIF-1 トランスジェニックラット。低酸素負荷により HIF-1 (Hypoxic inducible factor-1)  $\alpha$  の誘導を行った。HRE (hypoxia responsible element) トランスジェニックラット (TgRat) を用いて、野生型ラット (wRat) と比較対照することにより、(A) HIF-1  $\alpha$  の脳血管構築に及ぼす影響 (先天性な血管構築の違い) と (B) 脳梗塞における脳及び脳血管に及ぼす影響 (後天的な虚血ストレスに対する耐性獲得—末梢血管側副血行路の発達による循環の改善) に関して評価し、その機能の解明を行う。

## (4) ヘルペスウイルスベクターによる神経再生誘導研究

LacZ を発現するヘルペスウイルスベクターの脳内移植実験を行い、その発現を検証する。

## 3. 現在までの達成度

- (1) 60%の達成度であり、現在進行中である。

(2)50%の達成度であり、現在進行中である  
(3)実験は終了した。

(4)50%の達成度であり、現在進行中である  
4. 今後の研究の推進方策

(a) 絶対的なマンパワーの必要性があるため、新たに大学院生や助教を研究グループに加え、研究を横断的にかつ効率的に推進する。  
(b) オミクス研究においては、さらなる専門的知識と技術が必要であるため、他大学の研究室との共同研究を行う。

5. 代表的な研究成果

(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 36 件)

(1) Tanaka Y, Imai H, Konno K, Miyagishima T, Kubota C, Puentes S, Aoki T, Hata H, Takata K, Yoshimoto Y, Saito N. Experimental Model of Lacunar Infarction in the Gyrencephalic Brain of the Miniature Pig: Neurological Assessment and Histological, Immunohistochemical, and Physiological Evaluation of Dynamic Corticospinal Tract Deformation. *Stroke* 39: 205-212, 2008

(2) Nakamura M, Imai H, konno K, Kubota C, Seki K, Puentes S, Faired A, Yokoo H, Hata H, Yohimoto Y, Saito N. Experimental investigation of encephalo-myo-synangiosis using gyrencephalic brain of the miniature pig: histopathological evaluation of dynamic reconstruction of vessels for functional anastomosis. *J Neurosurg Pediatr* 3(6): 488-495, 2009

(3) Oya S, Yoshikawa G, Takai K, Tanaka JI, Higashiyama S, Saito N, Kirino T, Kawahara N. Attenuation of Notch signaling promotes the differentiation of neural progenitors into neurons in the hippocampal cal region after ischemic injury. *Neurosci.* 158:683-692, 2009

(4) Kubota C, Torii S, Hou N, Saito N, Yoshimoto Y, Imai H, Takeuchi T. Constitutive reactive oxygen species generation from autophagosome/lysosome in neuronal oxidative toxicity. *J Biol Chem.* 285: 667-674, 2009

(5) Yoshikawa G, Momiyama T, Oya S, Takai K, Tanaka JI, Higashiyama S, Saito N, Kirino T, Kawahara N. Induction of striatal neurogenesis and generation of region-specific functional mature neurons after ischemia by growth factors. *J Neurosurg.* 113(4):835-850, 2010

[学会発表] (計 2 件)

(1) H. Imai, M. Nakamura, C. Kubota, S. Puentes, A. Faired, Y. Yoshimoto, N. Saito. The insight of revascularization mechanism based on angiogenesis and arteriogenesis from the experimental and clinical works in moyamoya disease. *J Cereb Blood Flow Metab* (2009) 29, S376-S380 (Abstract 364)

(2) Y. Chen, A. Ito and N. Saito. A novel modified method and its confirmation of injection into CSF via the cerebellomedullary cistern in mice *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* (2009) 29, S213-S257 (Abstract 426)

(3) 今井英明, 中村光伸, 鹿児島海衛, 嶋口英俊, 風間健, 齋藤延人, 好本裕平. もやもや病に対する広範囲血行再建術後の血行再建パターンの解析 血管新生機序から考察した EMS の重要性 日本脳神経外科学会総会 CD-ROM 抄録集(1347-9040)67 回 Page3J-04-P80-06(2008.10)

(4) 伊藤明博, 北芳博, 陳毅力, 徳岡涼美, 齋藤延人, 清水孝雄. 脳虚血耐性におけるプロテオミクス解析 日本生化学会大会プログラム・講演要旨集 82 回 Page4P-595(2009.09)

(5) 今井英明, 久保田知里, 富沢真一郎, 越智崇, 伊藤明博, 中富浩文, 齋藤延人 神経細胞におけるフリーラジカルの産生機序と虚血細胞障害の解明(シンポジウム) 第 11 回日本分子脳神経外科学会 2010.08

[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]