

機関番号 : 32622

研究種目 : 基盤研究 (B)

研究期間 : 2008~2010

課題番号 : 20390461

研究課題名 (和文) PACAP による神経細胞死防御機構の解明と神経再生の分子基盤

研究課題名 (英文) Demonstration of PACAP on protection of delayed neuronal cell death and its molecular mechanism of neuroregeneration.

研究代表者

塩田清二 (SHIODA SEIJI)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号 : 80102375

研究成果の概要 (和文) : 本研究においては、PACAP の遅発性神経細胞死防御の分子基盤の解明と、さらにヒトへの臨床応用につながることを目的とした研究を行なった。また PACAP の神経幹細胞からニューロン・グリア細胞への分化誘導機構の解明を目的とする研究を行なった。さらに、新たなドラッグデリバリーシステム (DDS) の検討と開発を行ない、神経疾患の予防・治療法の実現に向けた基盤研究を行なった。本研究による研究成果は大変インパクトがあり、社会への貢献度も極めて高いと考えられる。

研究成果の概要 (英文) : We have studied to clarify the molecular basis for PACAP on protection of delayed neuronal cell death after brain ischemia in mice and to make a translational study for humans. In addition, we have also studied the molecular mechanism of PACAP on stimulating differentiation from neural stem cells into neurons and/or glial cells. Moreover, we developed a new drug delivery system (DDS) of PACAP by use of intranasal infusion to protect delayed neuronal cell death after brain ischemia. The present study will have a strong impact for protection of brain ischemia and it will open a new avenue to use of PACAP and its related peptides for clinical use for patients who will be suffered from neurodegeneration after brain ischemia with a new developed DDS.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	9,800,000	2,940,000	12,740,000
2009 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2010 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

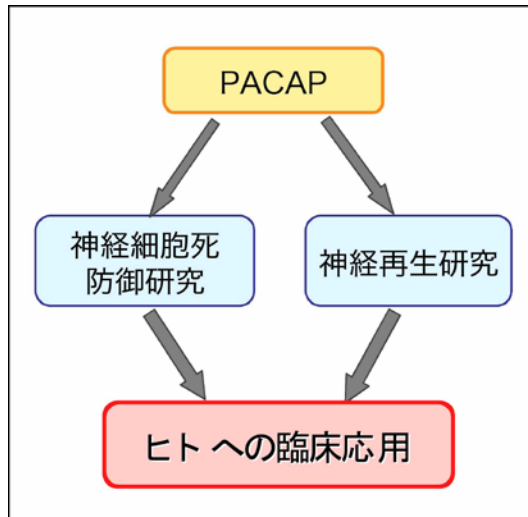
研究分野 : 医歯薬学

科研費の分科・細目 : 外科系臨床医学・救急医学

キーワード : (1) PACAP (2) PAC1-R (3) IL-6 (4) 神経細胞死 (5) 神経再生

1. 研究開始当初の背景

PACAP(Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide)は神経細胞死を超微量で抑制することが成体および個体発生過程の中樞神経系で明らかになっている。PACAP による神経細胞死抑制には、直接神経細胞に作用する系とグリア細胞から種々のサイトカイン分泌を介する系の存在を我々は証明したが、その作用機序の全容は不明であるといつてよい。一方、我々は PACAP による神経幹細胞からグリア細胞への分化誘導をはじめて観察・報告したが、ニューロンへの分化過程は依然として不明である。PACAP を脳の実質に到達させて神経細胞死を抑制するという臨床応用に行くためには、血液脳関門が大きな障害となっており、画期的なドラッグデリバリーシステム(DDS)を新たに開発する必要性和緊急性がある。



2. 研究の目的

本研究においては、我々のこれまでの長年の研究成果に基づき、PACAP の遅発性神経細胞死防御の分子基盤の解明と、さらにヒトへの臨床応用につながることを目的とした多面的研究を行う。また PACAP の神経幹細胞からニューロン・グリア細

胞への分化誘導機構の解明を目的とする研究を行い、ヒトの再生医学・医療法の開発につながる基盤研究を行なう。さらに、新たなドラッグデリバリーシステム(DDS)の検討と開発を行ない、**画期的な神経疾患の予防・治療法の実現**に向けた基盤研究を行なう。

(1) PACAPによる遅発性神経細胞死防御機構の解明と再生医学への展開研究

- 1) PACAP 遺伝子欠損マウスを用いて PACAP による**細胞死抑制**の分子基盤を解明する。
- 2) PACAP による **IL-6** を介した遅発性神経細胞死防御機構の全容を解明する。
- 3) 神経前駆細胞を用いて PACAP による神経細胞防御と神経再生につながる研究を行う。

(2) PACAPによる神経幹細胞からニューロン・グリアへの分化誘導機構の解明

- 1) PACAP による神経幹細胞の**細胞内シグナル伝達機構**の詳細を機能形態学的に解析する。
- 2) PACAP による**神経幹細胞からニューロン・グリアへの分化誘導過程**を明らかにする。

(3) 新規ドラッグデリバリーシステム(DDS)法の開発とその応用

3-1) 新規 DDS の開発：経鼻的な PACAP 投与法を動物実験で評価し、経鼻的投与法の臨床応用を目指す。

またナノ粒子を用いた新規 DDS の開発も行ない、PACAP の最適な投与法を確立する。

3-2) アンチセンス法を用いた再生治療：

PACAP27 のトランスポーターは脳実質から血管へ一方向性にこのペプチドを輸送することから、脳梗塞モデル動物に PACAP27 とこの mRNA のアンチセンスを同時投与し、神経細胞死抑制効果を評価する。そして臨床応用可能である新規細胞死防

御法を開発する。

【本研究の特色と独創性】本研究は、PACAP による神経細胞死抑制機構を解明し、さらにその細胞死防御の実体解明に迫り、細胞死抑制の防御戦略をたてる。PACAP 遺伝子を発現する神経前駆細胞用い、脳実質内で PACAP を合成・分泌させて神経細胞死を防御するという画期的な治療法の開発に道を開く。この方法は、**脳梗塞や統合失調症、アルツハイマー病**などの神経疾患の治療のみならず**神経細胞死の治療・予防にも応用可能**であると考えられる。また本研究により、PACAP による**神経幹細胞からニューロン・グリアへの分化誘導機構**が解明され、神経科学の分野で画期的な研究成果がえられる。また**グリオーマ**にみられるグリアの異常な細胞増殖の**病態解明**やその**予防・治療法**の開発にもつながると予測される。さらに我々独自に開発する DDS は、PACAP のみならず他の神経保護因子などにも応用が可能であり、さまざまな**脳機能障害の修復**や**種々の難治性神経疾患の治療**にも役立つと考えられる。PACAP は脳虚血 12-24 時間後に投与しても遅発性神経細胞死を抑制することが動物実験で明らかであり (Uchida, Shioda, '96)、新規 DDS の開発とあいまって従来とは全く異なる画期的かつ独創的な神経細胞死予防・治療法の開発につながると考えられる。

【予想される結果と意義】本研究のように細胞から**個体レベルまで脳内の PACAP**について研究を行なう**戦略は他に例をみずき**わめて**独創的**であり、しかも**臨床応用**にもつながることが**可能な研究**である。脳梗塞や脳痴呆の治療薬は存在しているが、有用なものはきわめて少なく、しかもその作用機序も不明な点が多い。日本は高齢化社会を迎えて脳血管障害、統合失調症、パーキンソン病など種々の疾患をもつ患者数が増加の一途をたどっている。このような状況下

では、**完全治癒のみならず病状の進行を遅らせることも必要**である。したがって**画期的な予防・治療法**の開発は急務であり、本研究を遂行することによる研究成果は大変インパクトがあり、社会への貢献度も極めて高いことを確信する。

【当該研究の位置づけ】 PACAP は 1989 年に米国チュレーン大学の有村らによって羊の視床下部より発見された神経ペプチドである。我々は PACAP の脳室内投与のみならず静注によっても遅発性神経細胞死が抑制されることをすでに発表した (Uchida, Shioda ら 1996)。また我々は脳梗塞モデル動物を用いて実験を行ない、PACAP が MAP キナーゼを介して**神経細胞死を抑制**することを**世界で初めて明らかにした** (Shioda ら 1998; Ozawa, Shioda ら 1999)。さらに我々は PACAP が培養下のアストロサイトを刺激して IL-6 の産生を促すという実験結果に基づき、PACAP 投与により脳脊髄液中にきわめて大量の IL-6 が分泌されることを報告した。また、PACAP が遅発性神経細胞死を顕著に抑制することを、VIP/PACAP 国際シンポジウムで招待講演した。PACAP の**神経細胞死抑制機構の研究**については、我々の**研究グループが世界の最先端を走っている**といっても過言ではない。

PACAP 受容体 (PAC1-R) には 10 数種類のサブタイプが存在し、cAMP-protein kinase A (PKA) を介するシグナル伝達系と protein kinase C (PKC) を介するシグナル伝達系が存在している。この 2 種類の受容体はラット脳内に広く発現し、個体発生過程のきわめて早期 (E9.5) の神経上皮に発現する (Zhou, Shioda ら 1999)。我々は PACAP が**神経幹細胞からグリアへの分化誘導作用**のあることをはじめて発見した。PACAP の新たな機能的意義の解明は、**神経幹細胞を用いた再生医学・医療への道**を切り開くものであり、**ヒトへの臨床応用は、新規 DDS の開**

研究代表者	塩田清二	研究の総括と形態学的研究	
共同研究者	中町智哉	脳虚血モデル作成と細胞死	
	大滝博和	神経再生の分子生物学的研究	
	荒田 悟	遺伝子改変モデル動物作製と機能解析	
実験協力者	有村 章	チューレン大学	PACAP抗体関連試薬の供与
	馬場明道	大阪大学	PACAP KOマウス供与
	赤池敏夫	東京工業大学	DDSの共同研究
	Darwin J. Prockop	チューレン大学	ヒト骨髄幹細胞供与
	William A. Banks	セントルイス大学	血液脳関門の共同研究

発とあいまって実現可能となると考えられる。申請者は PACAP をドライアイの治療薬としても特許申請をしており、臨床的応用へのプロセスは既に経験済みである。

3. 研究の方法

【要 旨】 研究目的に沿って、PACAP による遅発性神経細胞死防御機構と神経幹細胞からニューロン・グリアへの分化誘導機構の基盤研究を初年度に行なう。2年目からはヒト骨髄幹細胞を用いて PACAP の再生医学への展開をはかり、さらに画期的なドラッグデリバリーの開発と実用に向けた基盤研究を行なう。

【平成20年度実験計画】

★PACAP および PAC-1R 遺伝子欠損マウスを用いた神経細胞死の分子基盤の解明

PACAP KO マウス(大阪大学薬学部の馬場教授より供与)は既に本学の SPF 動物室で繁殖維持している。さらに PACAP レセプターである PAC1-R KO マウスについては、現在学内の遺伝子組換え実験動物施設への搬入について審査を受けているところである。

1) 上記の PACAP および PAC1-R 遺伝子欠損マウスを用いて脳虚血モデル動物を作成し、神経細胞死の有無を TUNEL 法により検出し、セルカウントを行う。さらにこれらの動物に PACAP を静脈または脳室内投与を行い、神経細胞死抑制効果を評価する(塩田・中町担当)。

2) 上記個体からマイクロダイセクション装置を用いて採取した海馬領域の錐体細胞の MAP キナーゼ活性を In gel assay 法および Immunocomplex assay 法を用いて測定する。さらに、PACAP による IL-6 以外のサイトカイン誘導の可能を RNase protection assay 法を用いてしらべる(中

町・荒田担当)。

3) さらに上記遺伝子欠損マウスから海馬の神経細胞およびアストロサイトを単離し、虚血条件下で細胞を灌流し細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化を測定する(塩田・中町担当)。fura-2 を付加した後、倒立型顕微鏡に ARGUS-50/CA(浜松ホトニクス)システムを組み合わせた装置をもちいて細胞内カルシウム濃度の変化をしらべる(塩田・中町担当)。細胞内カルシウム濃度の測定は、すでに単離した神経内分泌細胞で行っており、上記の実験を遂行するのに何ら問題はない。神経細胞およびアストロサイトをそれぞれ別個に取り出し機能解析をするためのマイクロダイセクション法はきわめて有用かつ必須のものであり、この装置(Cell Robotics, CE-1000)は本学基礎系電子顕微鏡室に設置されており現在稼働している。

★PACAP による IL-6 を介した神経細胞死制御機構の解析

IL-6は炎症性サイトカインとして良く知られているが、我々は PACAP による神経細胞死抑制機構の中でサイトカイン(IL-6)が重要な役割を担うのではという仮説を立て、それを実証する実験を行う。

1) PACAP 投与による IL-6 発現量の変化を明らかとするため、PACAP を浸透圧ポンプにより静脈内へ持続投与後の血中および脳脊髄液中の IL-6 蛋白質量を B9 バイオアッセイ系により定量し、さらに大脳皮質における IL-6 遺伝子発現量をリアルタイム PCR 法により定量する。さらに神経細胞、アストロサイトまたはマイクログリアの単一初代培養細胞を用い、PACAP 添加による IL-6 発現がどの細胞由来であるかを明らかとする。(荒田・中町担当)

2) IL-6 KO マウス(Basel の免疫学研究所の Dr. Kopf よりすでに供与済み)を用いて虚血実験を行ない、テトラゾリウムクロライド (TTC) 染色後に梗塞面積を定量化して野生型と比較する。さらに、両群に PACAP または生理的食塩水を静脈内投与し、各群での脳梗塞面積を比較することにより、PACAP の下流に IL-6 が存在するかどうかを明らかにする (中町担当)。

3) IL-6 は Erk、STAT3 および Akt の 3 つのシグナル系を介して Bcl-2 を活性化させ、ミトコンドリアからの Cytochrome C の分泌を阻止し、その結果アポトーシスを誘導する Caspase 3 の不活性化を生じることが知られている。そこで IL-6 KO および野生型マウスを用いて PACAP 投与による細胞内質内への Cytochrome C の分泌量およびミトコンドリア画分中の Bcl-2 発現量をウェスタンブロッティング法により解析する。また PACAPKO マウスと IL-6KO マウスを用いて脳虚血後におけるリン酸化(p)Erk、pSTAT3 および pAkt の発現量の変化を経時的に明らかとし、PACAP と IL-6 のシグナリングのクロストークを明らかにする (塩田・中町担当)。

★ 神経幹細胞からニューロン・グリア細胞への分化誘導機構の基盤研究

1) ICR 系マウスの胎児 (E14.5) から前脳を摘出し、軽く酵素処理を行なって細胞を単離する。この細胞は神経幹細胞を含むことから、bFGF 存在下で 4 日間細胞培養を行なう (大滝担当)。

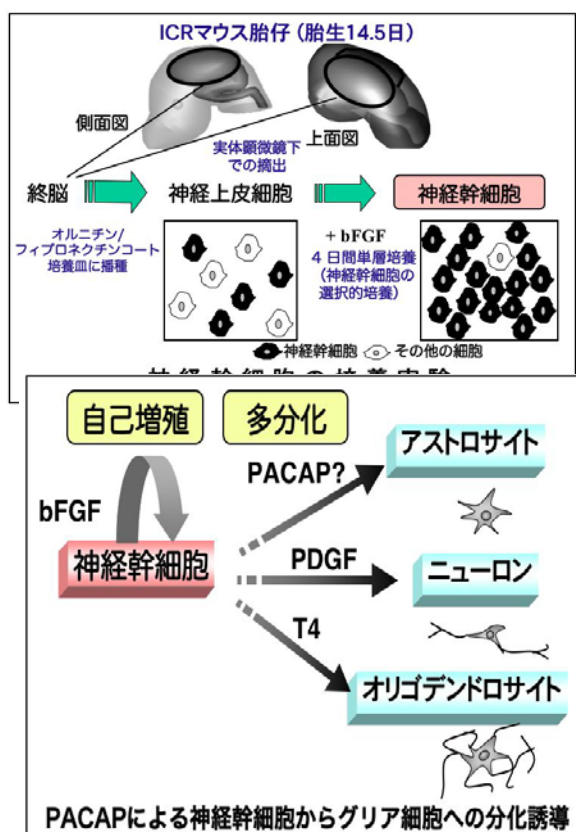
2) 神経幹細胞からの神経細胞あるいはグリア細胞への分化をしらべるために、細胞を固定し種々の細胞マーカーに対する抗体を用いて免疫染色を行ない光顕観察する。また神経幹細胞が PACAP 受容体を発現して

いるかどうかについては PAC1-R 抗体 (塩田ら作成) を用いて免疫染色および Western blot を行なう (大滝担当)。

3) 培養下で神経幹細胞に PACAP を添加し、さらに培養を行なう。この細胞の多くがニューロンおよびグリア細胞に分化することが予備実験で明らかになっている。そこで各種細胞マーカーの抗体を用いて免疫染色により細胞同定とその分化誘導作用の形態観察を行なう (塩田・大滝担当)。同時に PAC1-R の特異的な阻害薬である PACAP6-38 を培養下の細胞に PACAP 投与とともに添加し、PACAP によるグリア細胞への分化誘導の特異性をしらべる (大滝担当)。神経幹細胞からニューロンあるいはグリア細胞への分化過程の微細形態を詳細に観察するには高解像度の顕微鏡が是非とも必要であり、そのために蛍光/微分干渉顕微鏡 (Axio Imager, ZEISS) を初年度に導入したい。本装置を使うことにより、細胞レベルでの研究解析が飛躍的に向上すると考えられる。

4) さらに、PACAP による神経幹細胞からニューロン・グリア細胞への分化誘導過程における細胞内シグナル伝達機構を生化学的に解析する (大滝・荒田担当)。すなわち、PACAP による神経幹細胞への細胞内シグナル伝達において cAMP-Protein kinase A を介する系および PLC (Phospholipase C) 系を介したシグナル伝達機構の同定を行なう (大滝・荒田担当)。胎生期から新生期にかけて PACAP レセプターの発現変化を、RT-PCR In situ 法を用いて PACAP レセプターの各サブタイプの発現部位の同定を行う (塩田・大滝担当)。

5) ニューロン・グリア細胞への分化過程における PACAP の分子機構を解析するために、本学の共同研究利用施設の DNA array, LC-MAS などを用いて解析する(荒田担当)。さらに本学および第一解剖学教室に設置してある機能形態学的解析設備・装置類を有効に活用する。



【平成21年度以降】

★ ヒト骨髄幹細胞を用いた PACAP による神経細胞死防御と神経再生への展開

1) 株化されたヒト骨髄幹細胞は、研究協力者である米国チュレーン大学遺伝子治療センターのDr. Prockopより供与を受ける。この幹細胞はPACAPを産生することが明らかになっている(塩田未発表)。マウス脳室内に投与したこの幹細胞が実際に生体下でPACAPを産生していることを免疫染色法で確認し、さらに遺伝子発現の経時変化をしらべる(大滝・荒田担当)。

2) 脳虚血した免疫不全マウスに、この幹

細胞を脳室内投与あるいは頸動脈内投与を行なって細胞死抑制がおきるかどうかをTTC染色により評価する(中町・大滝担当)。移植したヒト骨髄幹細胞が未知あるいは既知のサイトカインを分泌して周囲の細胞から神経細胞への増殖と分化を誘導する可能性がある(Prockop、大滝ら未発表)のでその遺伝子および遺伝子産物を同定する。さらに、移植した幹細胞が直接あるいは間接的に神経幹細胞からニューロンへの分化誘導を促進するかどうかをBrdUの取り込み実験およびPCNAなどの細胞増殖マーカーを用いて評価する(塩田・大滝担当)。

★ 新規 DDS の開発と PACAP を用いた神経細胞死防御法の確立

1) まず PACAP 分子を脳の実質内に効率よく取り込ませるために、RI 標識 PACAP の静脈内および経鼻的投与を行ない、脳実質内における取り込み効率を測定する(塩田・中町担当)。すでに GLP-1, GALP などのペプチドを用いて経鼻的投与法が静注に比べて一桁以上優れていることを研究協力者である Dr. W. Banks はしらべている(未発表)。

2) 最適な DDS の設計を行なうためには、投与された薬物の相当部分が血流にのり、標的組織へ到達するようデザインされねばならない。近年、新しい高分子ミセルを設計して標的治療への応用が試みられている。DDS の重要なバイオマテリアルとしてナノ粒子(高分子ミセル、炭酸アパタイトなど)の利用が脚光を浴びてきている。そこで、ナノ粒子の構成成分として乳酸およびグリコール酸と乳酸とのコポリマーや、さらに最近炭酸アパタイトがナノ粒子として維持しやすく、細胞内に貪食されて取り込み効率が高いことが明らかになってきているので、炭酸アパタイトナノ粒子、高分子

ミセルなどの非ウイルス性キャリアを設計する。この設計については東工大の赤池敏宏教授の協力を受ける。

3) 次に PACAP を炭酸アパタイトと複合体を形成させたナノ粒子を生体に取り込ませる。さらにこのナノ粒子を経鼻的に投与して脳の実質に取り込ませる (中町・塩田担当)。

4) 脳虚血を行なった動物にこの DDS の手法を用いて PACAP を経鼻的に取り込ませ、神経細胞死抑制効果の評価を TTC 染色にて判定する (中町・塩田担当)。

PACAP 特異的トランスポーター (PTS-6) を用いた神経細胞死防御法の開発

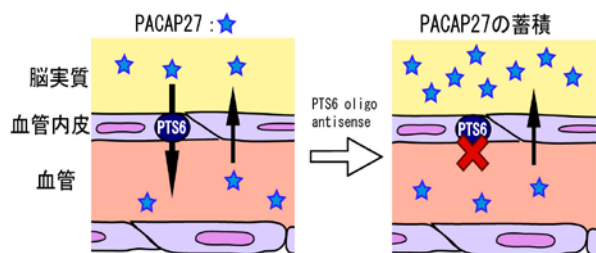
1) PACAP にはアミノ酸 27 残基からなる PACAP27 とアミノ酸 38 残基からなる PACAP38 が存在する。共同研究者の Dr. W. Banks および我々は、Peptide Transport System-6 (PTS-6) という PACAP27 トランスポーターが脳内の毛細血管内皮細胞に存在し、PACAP27 が脳から血液側への一方向性の能動輸送に関係することを明らかとしている。

2) そこで、PTS-6 に対する分解酵素耐性のオリゴヌクレオチドアンチセンスを設計し、静脈投与による脳内 PACAP27 含有量を増加させるかどうかをしらべる (中町・大滝担当)。この実験を行なうことにより、PTS-6 の機能を抑制することにより内因性 PACAP27 を脳内に増加させ神経細胞死を抑制できるかどうかを TTC 染色により評価する (大滝・塩田担当)。この PACAP トランスポーターをターゲットとした創薬展開は極めて独創的であり、血液脳関門透過性や血中ペプチダーゼやプロテアーゼによる PACAP 半減期や、血圧降下作用など、

これまでの PACAP の静脈内投与法による神経抑制法の種々の問題点を解決することが出来るのではないかと考えられる。

3) PACAP38 と PACAP27 は共にほぼ同様の生理活性を持っていると考えられているが、これまでに **PACAP27 に関する神経保護作用の研究はほとんどなされていない**。本研究では PACAP27 の神経保護効果をマウス脳虚血実験によりしらべ TTC 染色により評価する。さらに PTS-6 オリゴヌクレオチドアンチセンスと PACAP27 の共投与を行ない、神経保護効果の相乗効果を評価する (中町・塩田担当)。

4. 研究成果



平成20年度は、PACAPおよびIL-6の遺伝子欠損マウスを用いて神経細胞死の分子基盤の解明を行った。PACAPおよびIL-6遺伝子欠損マウスでは野生型に比べて有意に神経細胞死が起きることが海馬領域で明らかになった。またPACAPは神経細胞を刺激して炎症性サイトカインの一つであるIL-6の産生を亢進させることが知られていることから、PACAPによるIL-6を介した神経細胞死制御機構の解析を行った。PACAPの脳室内投与あるいは浸透圧ポンプによる静脈内への持続投与後の血中および脳脊髄液中のIL-6蛋白質量をB9アッセイ系により定量し、さらに脳におけるIL-6遺伝子発現量をリアルタイムPCR法により定量したところ、PACAPはIL-6の遺伝子発現を亢進させ、脳脊髄液中への分泌を促進することが分かった。さらにIL-6 KOマウスを用い

て虚血実験を行ないテトラゾリウムクロライド (TTC) 染色後に梗塞面積を定量化して野生型と比較したところ、PACAP KOマウスと野生型では梗塞面積が顕著に増加したことからPACAPはIL-6を介して神経細胞死の誘導を行う可能性が示唆された。IL-6はERK、STAT3およびAktの3つのシグナル系を介してBcl-2を活性化させ、ミトコンドリアからのCytochrome Cの分泌を阻止し、その結果アポトーシスを誘導するCaspase 3の不活性化を生じることから、IL-6 KO および野生型マウスを用いてPACAP 投与による細胞内質内へのCytochrome Cの分泌量およびミトコンドリア画分中のBcl-2発現量をウエスタンブロッティング法により解析した。PACAP KOマウスとIL-6 KOマウスを用いて脳虚血後におけるリン酸化(p)ERK、pSTAT3およびpAktの発現量の変化を経時的にしらべた結果、PACAPとIL-6のシグナリングのクロストークの存在が明らかになった。

平成21年度は、PACAPおよびIL-6の遺伝子欠損マウスを用いて神経細胞死の分子基盤の解明を行った。PACAPおよびIL-6遺伝子欠損マウスでは野生型に比べて有意に神経細胞死が起きることが海馬領域で明らかになった。またPACAPは神経細胞を刺激して炎症性サイトカインの一つであるIL-6の産生を亢進させることが知られていることから、PACAPによるIL-6を介した神経細胞死制御機構の解析を行った。PACAPはIL-6の遺伝子発現を亢進させ、脳脊髄液中への分泌を促進することが分かった。さらにPACAPはIL-6を介して神経細胞死の誘導を行う可能性が考えられた。また、当該年度において脳血管に発現するPACAP27の特異的なトランスポーターを分離同定した。このトランスポーターに対するアンチセンスプローブを作成し、これとPACAP27を脳虚血モデルマウスに投与した

ところ、神経細胞死が著名に抑制されることが分かった。PACAPとIL-6のシグナリングのクロストークの存在が昨年度の本研究で明らかになったことから、今後はPACAPレセプターのアンチセンスを用いたPACAP, IL-6の投与法の開発を行い、ヒトの脳梗塞患者に対して有効であるかどうかについてさらに動物を用いた実験を行なっていくことを計画した。またPACAPの脳梗塞患者への臨床応用を考えた場合には経鼻的投与法が静注よりもより実用的であると考えられることから、経鼻的にPACAPを投与する方法を考えて平成22年度以降の研究目標としていく予定で研究をすすめた。また神経再生についての研究では、虚血脳にPACAPを投与すると海馬領域における神経幹細胞の増加がみとめられ、またPACAP遺伝子欠損マウスでは神経幹細胞数の減少がみられた。

平成22年度は、PACAPの遅発性神経細胞死防御の分子基盤の解明と、さらにヒトへの臨床応用につながることを目的とした基盤研究を過去2年間の研究を基にして行った。とくに当該年度では、PACAPの神経幹細胞からグリア細胞への分化誘導機構の解明を目的とした研究をまず行った。さらに、神経前駆細胞を用いたPACAPによる神経細胞死防御法を開発するために以下の実験を行った。マウス、ラットから採取した骨髄幹細胞を大腿骨の骨髄から採取し、骨髄幹細胞を脳梗塞部位に注入し脳組織中でPACAPの遺伝子発現を促進するかどうかについてDNA arrayを用いてしらべた。その他、抗炎症作用をもつサイトカインの抑制あるいは栄養因子の産生など種々の作用を持つ可能性について質量分析装置などを用いて物質の化学的な同定を行ない、既知および未知の物質の同定をおこなった。新規性のあるものについては現在さらに機能を追求している。

平成23年の春に上記の遺伝子産物を特定した脳虚血の実験結果を論文として出版すべく準備を行なっている。まず始めに脳虚血によって脳内に発現する既知および未知の遺伝子および遺伝子産物についての論文を4月末には投稿する予定であり、それに続きPACAPの虚血脳における特定遺伝子および遺伝子産物の特定をしていくことで実験は継続している。

さらに平成22年度においては、PACAPによるグリア細胞への分化誘導機構の分子基盤の解明を行なった。神経幹細胞にPACAPを添加してアストロサイトへの分化誘導を行なう過程で細胞をすりつぶしてDNA arrayおよびLC-MASなどを用いて遺伝子発現および遺伝子産物の同定を行ない既知および未知の遺伝子産物を同定する事が出来た。さらにPACAPが個体発生過程および脳虚血後の神経細胞の再生を行なう可能性について、とくに海馬領域について機能形態学的に検索を現在行なっているところである。これら未知の遺伝子産物については機能解析をさらに進め、将来的には特許申請を行なって創薬展開をはかっていく予定である。

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32件)

- 1) Tanaka S, Ohtaki H, Nakamachi T, Shioda S, 他2名 (分担執筆) : Activation of microglia induced learning and memory deficits. *Transmitters and Modulators in Health and Disease-New Frontiers in Neuroscience*, 191-197.2009. Springer (Tokyo)査読有
- 2) Arata S, Hosono T, Kageyama H, Nakamachi T, Shioda S, 他1名 (分担執筆) : Increased behavioral activity with regular circadian rhythm in PACAP specific receptor (PAC1) transgenic mice. *Transmitters and Modulators in Health and Disease-New Frontiers in Neuroscience*, 199-205.2009. Springer (Tokyo)査読有
- 3) Morikawa K, Dohi K, Nakamachi T, Ohtaki H, Shioda S, 他3名 (分担執筆) : Expression and localization of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) specific receptor (PAC1R) after traumatic brain injury in mice. *Transmitters and Modulators in Health and Disease-New Frontiers in Neuroscience*, 207-210.2009. Springer (Tokyo)査読有
- 4) Ohtaki H, Nakamachi T, Dohi K, Shioda S : Role of PACAP in ischemic neural death. *J Mol Neurosci*, 36(1-3), 16-25,2008 査読有
- 5) Ashino T, Yamanaka R, Shioda S, Numazawa S, Yoshida T, 他4名 : Negative feedback regulation of lipopolysaccharide-induced nitric oxide synthase gene expression by heme oxygenase-1 induction in macrophages. *Mol Immunol*, 45(7),2106-2115, 2008 査読有
- 6) Nonaka N, Farr SA, Kageyama H, Shioda S, Banks WA : Delivery of galanin-like peptide to the brain: targeting with intranasal delivery and cyclodextrins. *J Pharmacol Exp Ther*, 325(2), 513-519, 2008 査読有
- 7) Hernadi L, Pirger T, Shioda S, Reglodi D, 他6名 : The presence and distribution of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide and its receptor in the snail *Helix pomatia*. *Neuroscience*, 155(2), 387-402, 2008 査読有
- 8) Seki T, Itoh H, Nakamachi T, Shioda S : Suppression of ganglion cell death by PACAP following optic nerve transection in the rat. *J Mol Neurosci*, 36(1-3), 57-60, 2008 査読有
- 9) Boros A, Reglodi D, Shioda S, Matsuda K, Molnar L, 他7名 : Changes in the expression of PACAP-like compounds during the embryonic development of the earthworm *Eisenia fetida*. *J Mol Neurosci*, 36(1-3), 157-165, 2008 査読有
- 10) Ohtaki H, Ylostalo JH, Foraker JE, Shioda S, Prockop DJ, 他2名 : Stem/progenitor cells from bone marrow decrease neuronal death in global ischemia by modulation of inflammatory/immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105(38), 14638-14643, 2008 査読有
- 11) Dogrukol-Ak D, Nonaka N, Nakamachi T, Ohtaki H, Shioda S, Banks WA, 他7

- 名 : Isolation of Peptide transport system-6 from brain endothelial cells: therapeutic effects with antisense inhibition in Alzheimer and stroke models. *J Cereb Blood Flow Metab*, 29(2), 411-422, 2009 査読有
- 12) Tanaka S, Ohtaki H, Nakamachi T, Numazawa S, Shioda S, Yoshida T: Activation of microglia induced learning and memory deficits. *Transmitters and Modulators in Health and Disease - New Frontiers in Neuroscience* -, 2009, pp191-197, Springer (Tokyo) 査読有
 - 13) Arata S, Hosono T, Taketomi Y, Kageyama H, Nakamachi T, Shioda S: Increased behavioral activity with regular circadian rhythm in PACAP specific receptor (PAC1) transgenic mice. *Transmitters and Modulators in Health and Disease- New Frontiers in Neuroscience* -, 2009, pp199-205, Springer (Tokyo) 査読有
 - 14) Morikawa K, Dohi K, Yofu S, Mihara Y, Nakamachi T, Ohtaki H, Shioda S, Aruga T: Expression and localization of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) specific receptor (PAC1R) after traumatic brain injury in mice. *Transmitters and Modulators in Health and Disease - New Frontiers in Neuroscience* 2009, pp207-210, Springer (Tokyo) 査読有
 - 15) Watanabe J, Nakamachi T, Ogawa T, Naganuma A, Nakamura M, Shioda S, Nakajo S: Characterization of antioxidant protection of cultured neural progenitor cells (NPC) against methylmercury (MeHg) toxicity. *J Toxicol Sci*, 34 (3); 315-325, 2009 査読有
 - 16) Muneoka K, Kuwagata M, Shirayama Y, Ogawa T, Shioda S: Biphasic effects of neonatal allopregnanolone on striatal dopamine metabolism. *Neuroreport*, 20 (9); 860-863, 2009 査読有
 - 17) Aoto K, Shikata Y, Imai H, Matsumaru D, Tokunaga T, Shioda S, Yamada G, Motoyama J: Mouse Shh is required for prechordal plate maintenance during brain and craniofacial morphogenesis. *Dev Biol*, 327 (1); 106-120, 2009 査読有
 - 18) Dogrukol-Ak D, Kumar VB, Ryerse JS, Farr SA, Verma S, Nonaka N, Nakamachi T, Ohtaki H, Niehoff ML, Edwards JC, Shioda S, Morley JE, Banks WA: Isolation of peptide transport system-6 from brain endothelial cells: therapeutic effects with antisense inhibition in Alzheimer and stroke models. *J Cereb Blood Flow Metab*, 29 (2); 411-422, 2009 査読有
 - 19) Muneoka K, Shirayama Y, Takigawa M, Shioda S: Brain region-specific effects of short-term treatment with duloxetine, venlafaxine, milnacipran and sertraline on monoamine metabolism in rats. *Neurochem Res*, 34 (3); 542-455, 2009 査読有
 - 20) Dohi K, Ohtaki H, Nakamachi T, Yofu S, Satoh K, Miyamoto K, Song D, Tsunawaki S, Shioda S, Aruga T: Gp91phox (NOX2) in classically activated microglia exacerbates traumatic brain injury. *J Neuroinflammation*, 7 41, 2010 査読有
 - 21) Ohtaki H, Satoh A, Nakamachi T, Yofu S, Dohi K, Mori H, Ohara K, Miyamoto K, Hashimoto H, Shintani N, Baba A, Matsunaga M and Shioda S: Regulation of Oxidative Stress by Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) Mediated by PACAP Receptor. *J Mol Neurosci*, 42 (3); 397-403, 2010 査読有
 - 22) Mori H, Nakamachi T, Ohtaki H, Yofu S, Sato A, Endo K, Iso Y, Suzuki H, Takeyama Y, hintani N, Hashimoto H, Baba A and Shioda S: Cardioprotective Effect of Endogenous Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide on Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy in Mice. *Circ J*, 74 (6); 1183-1190, 2010 査読有
 - 23) Ohtaki H, Yofu S, Nakamachi T, Satoh K, Shimizu A, Mori H, Sato A, Iwakura Y, Matsunaga M, Shioda S: Nucleoprotein Diet Ameliorates Arthritis Symptoms in Mice Transgenic for Human T-Cell Leukemia Virus Type I (HTLV-1). *J Clin Biochem Nutr*, 46(2); 93-104, 2010 査読有
 - 24) Liu Y, Namba T, Liu J, Suzuki R, Shioda S, Seki T: Glial fibrillary acidic protein-expressing neural progenitors give rise to immature neurons via early intermediate progenitors expressing both glial fibrillary acidic protein and neuronal markers in the adult hippocampus. *Neuroscience*, 166 (1); 241-251, 2010 査読有
 - 25) Nakamachi T, Ohtaki H, Yofu S, Dohi K, Watanabe J, Mori H, Sato A, Hashimoto H, Shintani N, Baba A, Shioda S: Endogenous pituitary

- adenylate cyclase activating polypeptide is involved in suppression of edema in the ischemic brain. *Acta Neurochir Suppl*, 106 43-46, 2010 査読有
- 26) Dohi K, Satoh K, Nakamachi T, Ohtaki H, Yofu S, Nakamura S, Shioda S, Aruga T: Novel free radical monitoring in patients with neurological emergency diseases. *Acta Neurochir Suppl*, 106 315-319, 2010 査読有
 - 27) Mihara Y, Dohi K, Yofu S, Nakamachi T, Ohtaki H, Shioda S, Aruga T: Expression and Localization of the Orexin-1 Receptor (OX1R) After Traumatic Brain Injury in Mice. *J Mol Neurosci*, in press 査読有
 - 28) Ogawa T, Wakai C, Saito T, Murayama A, Mimura Y, Yofu S, Nakamachi T, Kuwagata M, Satoh K, Shioda S: Distribution of the longevity gene product, SIRT1, in developing mouse organs. *Congenit Anom (Kyoto)*, in press 査読有
 - 29) Seki T, Itoh H, Nakamachi T, Endo K, Wada Y, Nakamura K, Shioda S: Suppression of Rat Retinal Ganglion Cell Death by PACAP Following Transient Ischemia Induced by High Intraocular Pressure. *J Mol Neurosci*, in press 査読有
 - 30) Nakamachi T, Nakamura K, Oshida K, Kagami N, Mori H, Watanabe J, Arata S, Yofu S, Endo K, Wada Y, Hori M, Tsuchikawa D, Kato M, Shioda S: Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) Stimulates Proliferation of Reactive Astrocytes In Vitro. *J Mol Neurosci*, in press 査読有
 - 31) Tanaka S, Kondo H, Kanda K, Ashino T, Nakamachi T, Sekikawa K, Iwakura Y, Shioda S, Numazawa S, Yoshida T: Involvement of interleukin-1 in lipopolysaccharide-induced microglial activation and learning and memory deficits. *J Neurosci Res*, 89 (4); 506-14, 2011 査読有
 - 32) Endo K, Nakamachi T, Seki T, Kagami N, Wada Y, Nakamura K, Kishimoto K, Hori M, Tsuchikawa D, Shinntani N, Hashimoto H, Baba A, Koide R, Shioda S: Neuroprotective effect of PACAP against NMDA-induced retinal damage in the mouse. *J Mol Neurosci*, 43(1); 22-9, 2011 査読有
- 1) Ohtaki H, Ylostalo J, Foraker JE, Shioda S, Prockop DJ, 他 2 名 : Human adult stem/progenitor cells from bone marrow (hMSCs) decrease neuronal cell death in global ischemia by modulation of the immune response. 第 31 回に本神経科学大会 (東京、2008.7)
 - 2) Shioda S, Nakamachi T, Ohtaki H, Dohi K, Nonaka N, 他 1 名 : Neuroprotection and the molecular mechanism of Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) in brain ischemia (Symposium). First meeting of the Japan Branch of the International Neuropeptide Society ; International Symposium on Biologically Active Peptides : Peptide Diversity (Sendai, 2008. 8)
 - 3) 中町智哉、渡邊 潤、大滝博和、養父佐知子、塩田清二 : 下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド (PACAP) の神経幹細胞に対する作用. 第 35 回日本下垂体研究会合同学術集会 (東京、2008.8)
 - 4) Nakamachi T, Ohtaki H, Nonaka N, Banks WA, Shioda S : Neuroprotective effect of PACAP and the mechanisms : therapeutic effects in Stroke models (Symposium). Showa University International Symposium for Life Science 5th Annual Meeting (Tokyo, 2008.9)
 - 5) Tanaka S, Kanda K, Nakamachi T, Shioda S, Yoshida T, 他 1 名 : Involvement of IL-1 in lipopolysaccharide-induced impairment of learning and memory in mice (Symposium). Showa University International Symposium for Life Science 5th Annual Meeting (Tokyo, 2008.9)
 - 6) Arata S, Hosono T, Kageyama H, Nakamachi T, Shioda S ; Increased behavioral activity with regular circadian mice (Symposium). Showa University International Symposium for Life Science 5th Annual Meeting (Tokyo, 2008.9)
 - 7) Morikawa K, Yofu S, Nakamachi T, Shioda S, Aruga T, 他 2 名 : Expression and localization of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-specific receptor (PACAP) after traumatic brain injury in mice. Showa University International Symposium for Life Science 5th Annual Meeting (Tokyo, 2008.9)
 - 8) Ohtaki H, Ylostalo J, Foraker JE, Shioda S, Prockop DJ, 他 2 名 :

- Humanadult stem/progenitor cells from bone marrow (hMSCs) suppress ischemic neuronal death through microglia. The 38th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, 2008.11)
- 9) Nakamachi T, Yofu S, Mori H, Ohtaki H, Shioda S, 他 3 名 : Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) stimulates proliferation of reactive astrocyte *in vitro*. The 38th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, 2008.11)
- 10) 中町智哉, 大滝博和, 養父佐知子、渡邊潤、塩田清二 他 2 名 : マウス涙腺組織における PACAP/PAC1 受容体の分布局在と機能解析. 第 33 回日本比較内分泌学会大会及びシンポジウム (広島、2008.12)
- 11) Nakamachi T, Ohtaki H, Nonaka N, Banks WA, Shioda S, 他 1 名 : Endogenous PACAP protects the brain against focal cerebral ischemia in mice (Symposium). 17th International Symposium on Regulatory Peptides (Santa Barbara, 2009.1)
- 12) 中町智哉, 大滝博和, 養父佐知子、野中直子、塩田清二, 他 1 名 : 内因性 PACAP による虚血性神経細胞死抑制作用の解析. 第 114 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (岡山、2009.3)
- 13) 大滝博和, Ylostalo JE, 塩田清二, Prockop DJ : 骨髄間葉系幹細胞は免疫応答の調節により虚血性神経細胞死を抑制する. 第 114 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (岡山、2009.3)
- 14) 森 敬善、中町智哉、大滝博和、馬場明道、塩田清二、他 6 名 : マウスのドキシソルピシン心筋障害モデルにおける Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide (PACAP)の心筋保護効果. 第 114 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (岡山、2009.3)
- 15) 中町智哉、養父佐知子、大滝博和、森 敬善、塩田清二、他 2 名 : 反応性アストロサイトにおける PACAP 受容体発現とその機能的意義の解析. 114 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (岡山、2009.3)
- 16) Nakamachi T, Ohtaki H, Yofu S, Nonaka N, Banks WA, Shioda S: Endogenous PACAP protects the brain against focal cerebral ischemia in mice. 17th International Symposium on Regulatory Peptides (Santa Barbara, CA, 2009. 1)
- 17) 中町智哉、大滝博和、養父佐知子、野中直子、William A Banks、塩田清二 : 内因性 PACAP による虚血性神経細胞死抑制作用の解析. 第 114 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (岡山、2009. 3)
- 18) 大滝博和、Joni E Ylostalo、塩田清二、Darwin J Prockop: 骨髄間葉系幹細胞は免疫応答の調節により虚血性神経細胞死を抑制する. 第 114 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (岡山、2009. 3)
- 19) 森 敬善、中町智哉、大滝博和、馬場明道、塩田清二 : マウスのドキシソルピシン心筋障害モデルにおける Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide (PACAP) の心筋保護効果. 第 114 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (岡山、2009. 3)
- 20) 中町智哉、押田佳菜子、養父佐知子、大滝博和、森 敬善、佐藤 敦、塩田清二 : 反応性アストロサイトにおける PACAP 受容体発現とその機能的意義の解析. 第 114 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (岡山、2009. 3)
- 21) Shioda S, Nakamachi T, Ohtaki H, Matsuda K: Evolution of PACAP signaling in vertebrates (Symposium). 16th International Congress of Comparative Endocrinology (Hong Kong, China, 2009. 6)
- 22) Azuma M, Tanaka M, Saito Y, Uchiyama M, Mizusawa K, Takahashi A, Shioda S, Matsuda K: PACAP and MCH regulates somatolactin release from cultured goldfish pituitary cells. 16th International Congress of Comparative Endocrinology (Hong Kong, China, 2009. 6)
- 23) Shioda S, Nakamachi T, Ohtaki H, Dohi K, Nonaka N, Banks WA: Neuroprotection and molecular mechanism of PACAP in brain ischemia. Neuropeptide Festival 2009, Joint Meeting of the European Neuropeptide Club and Summer Neuropeptide Conference (Salzburg, Austria, 2009. 7)
- 24) Ohtaki H, Ylostalo J, Foraker JE, Robinson AP, Reger RL, Shioda S, Prockop DJ: Human adult stem/progenitor cells from bone marrow protect hippocampal neurons by communicating with microglia after transient global ischemia of mice. International society for stem cell research (ISSCR) 7th Annual Meeting (Barcelona, Spain, 2009. 7)
- 25) Mihara Y, Dohi K, Yofu S, Nakamachi T, Kageyama H, Shioda S, Aruga T: The expression and the localization of orexin-1 receptor (OX1R) after traumatic brain injury in mice. Yakushima 2009

- (Satellite Symposium of the 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides) Phylogenetic Aspects of Neuropeptides - from Invertebrates to Humans (Yakushima, Kagoshima, 2009. 10)
- 26) Watanabe J, Nakamachi T, Nakamura M, Nakajo S, Shioda S: PACAP induces neural progenitor cell differentiation toward glial lineage in vivo. Yakushima 2009 (Satellite Symposium of the 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides) Phylogenetic Aspects of Neuropeptides - from Invertebrates to Humans (Yakushima Kagoshima, 2009. 10)
- 27) Mori H, Nakamachi T, Ohtaki H, Hasegawa F, Yofu S, Suzuki H, Takeyama Y, Shintani N, Hashimoto H, Baba A, Shioda S: Endogenous PACAP as a cardioprotectant in Doxorubicin-induced cardiomyopathy model in mice. Yakushima 2009 (Satellite Symposium of the 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides) Phylogenetic Aspects of Neuropeptides - from Invertebrates to Humans (Yakushima, Kagoshima, 2009. 10)
- 28) Azuma M, Tanaka M, Saito Y, Uchiyama M, Takahashi A, Shioda S, Matsuda K: Regulation of somatolactin release from cultured goldfish pituitary cells by PACAP and MCH. Yakushima 2009 (Satellite Symposium of the 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides) Phylogenetic Aspects of Neuropeptides - from Invertebrates to Humans (Yakushima, Kagoshima, 2009. 10)
- 29) Nakamachi T, Ohtaki H, Nonaka N, Banks WA, Shioda S: Neuroprotective effect of endogenous PACAP against focal cerebral ischemia in mice. Yakushima 2009 (Satellite Symposium of the 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides) Phylogenetic Aspects of Neuropeptides - from Invertebrates to Humans (Yakushima, Kagoshima, 2009. 10)
- 30) Itoh H, Seki T, Nakamachi T, Endo K, Shioda S: Effects of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) on the survival of ganglion cells in the rat retina after intraocular hypertension. Yakushima 2009 (Satellite Symposium of the 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides) Phylogenetic Aspects of Neuropeptides - from Invertebrates to Humans (Yakushima, Kagoshima, 2009. 10)
- 31) Ohtaki H, Nakamachi T, Dohi K, Shioda S: Neuroprotective strategy on brain injuries by immunomodulation - Lesson from PACAP and hMSCs on stroke -. The 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides (Kagoshima, 2009. 10)
- 32) Nonaka N, Nakamachi T, Shioda S, Banks WA: Delivery of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) to the brain: targeting with intranasal delivery and cyclodextrins. The 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides (Kagoshima, 2009.10)
- 33) Nakamachi T, Aizawa Y, Ohtaki H, Yofu S, Seki T, Endo K, Nakamura K, Kagami N, Arata S, Shintani N, Hashimoto H, Baba A, Shioda S: Effect of PACAP on tear secretion in mouse. The 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides (Kagoshima, 2009. 10)
- 34) Mori H, Nakamachi T, Ohtaki H, Hasegawa F, Yofu S, Suzuki H, Takeyama Y, Shintani N, Hashimoto H, Baba A, Shioda S: Endogenous PACAP attenuated doxorubicin-induced myocardial damage. The 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides (Kagoshima, 2009. 10)
- 35) Sato A, Ohtaki H, Dohi K, Nakamachi T, Yofu S, Ohara K, Hashimoto H, Murakami T, Ando M, Shintani N, Baba A, Shioda S: Suppression of oxidative stress by PACAP. The 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides (Kagoshima, 2009. 10)
- 36) Azuma M, Tanaka M, Saito Y, Uchiyama M, Takahashi A, Shioda S, Matsuda K: Regulation of somatolactin release from cultured goldfish pituitary cells, by PACAP and MCH. The 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides (Kagoshima, 2009. 10)
- 37) Ogawa T, Wakai C, Saito T, Murayama A, Mimura Y, Yofu S, Kuwagata M, Nakamachi T, Sato K, Shioda S: Observation of the longevity gene product, SIRT1 immunoreactivity

- in the developing mouse nervous system. The 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Chicago, IL, 2009. 10)
- 38) Nakamachi T, Ohtaki H, Nonaka N, Banks WA, Shioda S: Neuroprotective effect of endogenous PACAP against ischemic damage; Target on peptide transport system-6. The 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Chicago, IL, 2009. 10)
- 39) Seki T, Namba T, Liu Y, Shioda S: How do GFAP-expressing neural progenitors divide and generate neuron-committed progeny in the postnatal hippocampus? The 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Chicago, IL, 2009. 10)
- 40) Shioda S, Nakamachi T, Ohtaki H, Dohi K, Nonaka N, Banks WA: Neuroprotection by PACAP and MSCs in ischemic brain (Invited lecture). The Israel Society for Neuroscience 8th Annual Meeting (Eilat, 2009. 11)
- 41) 伊東宏之、関保、中町智哉、塩田清二: ラット高眼圧モデルにおける神経ペプチド PACAP による神経節細胞死抑制効果の評価. 第 56 回昭和医学会総会 (東京、2009.11)
- 42) 大滝博和: 骨髄幹細胞による神経保護作用とマイクログリア制御機構 (シンポジウム). 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (盛岡, 2010. 3)
- 43) 中町智哉、会沢洋一、大滝博和、養父佐知子、関保、遠藤貴美、荒田 悟、新谷紀人、橋本 均、馬場明道、塩田清二: PACAP 遺伝子欠損マウスにおける涙液分泌機能異常. 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (盛岡, 2010. 3)
- 44) 野中直子、中町智哉、塩田清二、中村雅典: Immunohistochemical localization of PACAP and PAC-1 receptors in mouse salivary glands. 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (盛岡, 2010. 3)
- 45) 中町智哉、新野由子、小倉 潔、塩田清二: マウス精巣における PKC δ の組織分布. 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (盛岡, 2010. 3)
- 46) 石 龍徳、大隅典子、井村徹也、塩田清二: 海馬歯状回原基の GFAP 発現神経幹細胞のニューロン分化について. 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (盛岡, 2010. 3)
- 47) 土肥謙二、大滝博和、佐藤和恵、中町智哉、養父佐知子、宋 丹丹、村上朋恵、宮本和幸、塩田清二、有賀 徹: 頭部外傷後の cytotoxic microglia における gp91phox の発現と役割. 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (盛岡, 2010. 3)
- 48) 佐藤 敦、小原賢司、大滝博和、安藤美貴子、渥美 敬、塩田清二: インターロイキン 1 遺伝子欠損マウスにおける脊髄損傷後の神経炎症反応抑制効果. 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (盛岡, 2010. 3)
- 49) 遠藤貴美、中町智哉、関保、加賀美信幸、中村圭輔、市橋陽子、塩田清二: NMDA 誘導性網膜障害マウスに対する PACAP の保護効果. 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (盛岡, 2010. 3)
- 50) Ohtaki H: Modulation of immune response by PACAP and MSCs is a therapeutic strategy for neural injury (Symposist). Official satellite symposium of the 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010) (GPCR2010) (Kyoto, 2010. 3)
- 51) Azuma M, Tanaka M, Saito Y, Uchiyama M, Takahashi A, Shioda S, Matsuda K: Somatolactin release from cultured goldfish pituitary cells is regulated by PACAP and MCH. Official satellite symposium of the 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010) (GPCR2010) (Kyoto, 2010. 3)
- 52) 中町智哉、会沢洋一、大滝博和、関保、遠藤貴美、荒田 悟、新谷紀人、橋本 均、馬場明道、塩田清二: 新規ドライアイ疾患モデル動物としての PACAP 遺伝子欠損マウスの評価. 第 57 回日本実験動物学会 (京都, 2010. 5)
- 53) Ohtaki H, Murakami T, Song D, Sato A, Dohi K, Shioda S: Human MSCs modified classical activation in microglial cells. International society for stem cell research (ISSCR) 8th Annual Meeting (San Francisco, CA, 2010. 6)
- 54) Shioda S, Nakamachi T, Ohtaki H, Arata S: Deficient of learning and memory in aged PACAP-deficient mice. 7th Joint meeting of the European Neuropeptide Club and the Summer Neuropeptide Conference (Pécs, Hungary, 2010. 6)
- 55) Ohtaki H, Ylostalo J, Song D, Kobayashi N, Prockop DJ, Shioda S: Human MSCs suppress neuronal cell death after ischemia by anti-inflammation. 10th International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2010) (Sites, Spain, 2010. 10)
- 56) Dohi K, Ohtaki H, Kazue S, Nakamachi T, Yofu S, Miyamoto K, Song D, Tsunawaki S, Shioda S, Aruga T: The roles of Gp91phox (NOX2) expressed in

- classical activated microglia after traumatic brain injury. 10th International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2010) (Sites, Spain, 2010. 10)
- 57) Sato A, Ohara K, Ohtaki H, Atsumi T, Shioda S: Interleukin-1 influence microglia/macrophage activation after spinal cord injury in mice. 10th International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2010) (Sites, Spain, 2010. 10)
- 58) Nakamachi T, Kagami N, Yofu S, Endo K, Nakamura K, Wada Y, Horii M, Arata S, Shioda S: Distribution of activity-dependent neuroprotective protein (ADNP) and PAC1 receptor in intact and ischemic mouse brain. The 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (San Diego, CA, 2009. 10)
- 59) Ohtaki H, Song D, Kobayashi N, Dohi K, Shioda S: Human MSCs decrease nitric oxide release from microglia. The 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (San Diego, CA, 2010. 10)
- 60) Ishii A, Tanaka S, Ohtaki H, Nakamachi T, Numazawa S, Shioda S, Yoshida T: Activation of microglia lead to onset of Parkinson disease animal model. The 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (San Diego, CA, 2010. 10)
- 61) 中町智哉:マウスにおける PACAP の涙液分泌促進効果. 第 35 回日本比較内分泌学会大会 (静岡, 2010. 11)
- 62) Shioda S: PACAP and neuronal cell death. 5th International Peptide Symposium (Kyoto, Japan, 2010. 12)
- 63) Nakamachi T, Endo K, Seki T, Kagami N, Nakamura K, Wada Y, Kishimoto K, Farkas J, Arata S, Shioda S: Retinal Protective Effect of Pituitary Adenylate Cyclase-activating Polypeptide (PACAP) Against NMDA-induced Damage in Mice. 5th International Peptide Symposium (Kyoto, 2010. 12)
- 64) Farkas J, Mester L, Kovacs K, Reglodi D, Matkovits A, Gaal V, Biro Z, Szabo A, Racz B Szabadfi K, Lubics A, Tamas A, Atlasz T, Shioda S, Nakamachi T, Kiss P: Effect of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) in corneal epithelial regeneration and signal transduction in rats. 5th International Peptide Symposium (Kyoto, 2010. 12)
- 65) 中町智哉, 荒田 悟, 鬼丸 洋, 塩田清二: PACAP 遺伝子欠損マウスにおける呼吸機能異常. 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会 (横浜, 2011. 3) (シンポジスト)
- 66) 小林夏季, 大滝博和, 宋 丹丹, 宮本和幸, 圓谷智海, 吉田武美, 松永政司, 塩田清二: 核蛋白質によるパーキンソン病予防効果の検討. 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会 (横浜, 2011. 3)
- 67) 和田悦洋, 遠藤貴美, 中町智哉, 関 保, 加賀美信幸, 中村圭輔, 堀 元英, 土川大介, 新谷紀人, 橋本 均, 馬場明道, 小出良平, 塩田清二: 内因性 PACAP はマウスにおける NMDA 誘発性網膜障害に対して神経保護因子として機能する. 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会 (横浜, 2011. 3)
- 68) 野中直子・中町智哉・塩田清二・中村雅典: 若齢および高齢マウス唾液腺における PACAP と PAC-1 レセプター局在の検討. 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会 (横浜, 2011. 3)
- 69) 宋 丹丹, 大滝博和, 小林夏季, 圓谷智海, 平泉 裕, 井上富雄, 塩田清二: 異なる継代回数における骨髄由来間葉系幹細胞の特性比較. 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会 (横浜, 2011. 3)
- 70) 堀 元英・Randeep Rakwal・柴藤淳子・中町智哉・玉木敬二・塩田清二: 脳虚血における PACAP の神経保護作用: 遺伝子とタンパク質の発現から見た分子的要素の解析. 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会 (横浜, 2011. 3)
- 71) Shioda S, J Farkas, L Mester, K Kovacs, D Reglodi, A Matkovits, V Gaal, Z Biro, A Szabo, B Racz, K Szabadfi, A Lubics, T Atlasz, A Tamas, T Nakamachi, P Kiss : Effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) in corneal epithelial regeneration and signal transduction in rats. 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会 (横浜, 2011. 3)

[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〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塩田清二 (Shioda Seiji)
昭和大学・医学部・教授
研究者番号：80102375

(2) 研究分担者

大滝博和 (Ohtaki Hirokazu)
昭和大学・医学部・助教
研究者番号：20349062
中町智哉 (Nakanachi Tomoya)
昭和大学・遺伝子組換え実験室・助教
研究者番号：30433840

(3) 連携研究者

荒田 悟 (Arata Satoru)
昭和大学・遺伝子組換え実験室・准教授
研究者番号：20159502