

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591011

研究課題名(和文) 脳虚血後における新規脳保護薬・骨髄細胞移植併用の神経再生増強効果の研究

研究課題名(英文) Effect of combined treatment with transplantation of BMSCs and an neuroprotective agent, FK506 on enhancement of amelioration of ischemic brain damage.

研究代表者

片山 泰朗(KATAYAMA YASUO)

日本医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：70152692

研究成果の概要(和文)：

本研究ではラット一過性中大脳動脈閉塞モデルを用い、骨髄間葉系幹細胞(BMSCs)移植に神経保護効果を有する免疫抑制薬である FK506 を併用することで脳保護および神経再生効果を増強できるかについて検討し、その結果、ラット一過性局所脳虚血モデルにおいて急性期 BMSCs 移植に FK506 を併用することで脳保護効果を増強させ得ることが示唆され、虚血周辺部でのアポトーシスの抑制、脳内局所炎症反応の抑制、移植細胞の生存の増強等の機序が考えられた。

研究成果の概要(英文)：

Aims :Transplantation of bone marrow stromal cells(BMSCs)has been shown to ameliorate ischemic brain injury in animals. In the present study, we investigated whether the transplantation of BMSCs combined with FK506, a clinically used immunosuppressant, enhanced neuroprotective effects in rat experimental stroke.

Methods : Male Sprague-Dawley rats underwent transient 90 min middle cerebral artery occlusion(MCAO). Two or 6 hours after ischemia onset, the rats were randomly assigned to receive intravenous administration of BMSCs plus FK506, BMSCs alone, FK506 alone, or vehicle. Infarct volume, and neurological and immunohistological assessments were performed to examine the effects of these therapies.

Results : In 2-hour post-ischemia treatment groups, significant improvement of infarct volume and neurological scores were observed 1 day after combination therapy compared with monotherapy, and this neuroprotection continued for 7 days. Combination therapy significantly reduced the number of TUNEL-positive apoptotic cells, increased Bcl-2 expression, decreased Bax expression, and suppressed neutrophil infiltration and microglia/macrophage activation compared to monotherapy. In 6-hour post-ischemia treatment groups, a significant reduction of infarct volume, edema index, and neurological score was observed only in combination therapy group. Moreover, the number of engrafted BMSCs on day 7 with combination therapy was significantly higher than with

BMSCs alone.

Conclusion: Combination therapy using FK506 enhanced the anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of BMSCs and increased the survival of transplanted cells, leading to expansion of the therapeutic time window for BMSCs.

交付決定額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

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: 1)脳虚血, 2)骨髄細胞移植, 3)脳保護薬, 4)神経再生, 5)神経修復

1. 研究開始当初の背景

脳虚血後の apoptosis を抑制する観点から各種脳保護薬が開発されてきた。今回はその中で我々がすでに優れた脳保護作用を有することを示した免疫抑制薬 FK506 等は新規脳保護薬として有望視されているが、脳虚血におけるこれら新規脳保護薬の in vivo での移植骨髄細胞の生存率に及ぼす影響やそれに伴う神経再生増強作用については不明である。

2. 研究の目的

脳虚血後の新規保護薬 FK506・骨髄細胞移植併用の神経増強効果のメカニズムを近年の分子生物学的手法を用い解明すること目的とする。また移植細胞における apoptosis の誘導については TUNEL を用いて検討する。

3. 研究の方法

脳虚血の作成はラットを用いて糸付き栓子を使用して中大脳動脈を 90 分間閉塞させた後に再開通させることで行った。再開通 2 または 6hr 後に骨髄間葉系幹細胞 (BMSCs) 1×10⁶, FK506 0.3mg/kg または両者を IV 投与し、再灌流 24 時間および 7 日後に脳梗塞体積、脳浮腫体積、神経学的徴候を測定した。また、各種免疫組織学的検討を行った。

4. 研究成果

- (1) 実験 1: 骨髄間葉系幹細胞移植による神経再生に関する検討 (別紙添付)
- (2) 実験 2: 骨髄間葉系幹細胞・FK506 併用による神経保護効果増強に関する検討 (別紙添付)
- (3) 主な成果は平成 22 年度実績報告書添付

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2件)

1) Suda S, Shimazaki K, Ueda M, Inaba T, Kamiya N, Katsura K, Katayama Y : Combination therapy with bone marrow stromal cells and FK506 enhanced amelioration of ischemic brain damage in rats. Life Sciences (in contribution) 2011 May 18. [Epub ahead of print]

2) 上田雅之, 片山泰朗 : Brain protection and regeneration therapy for delayed neuronal injury in neurological disorder. J Nippon Med Sch. 2010;77: 56-58

[学会発表] (計6件)

1) Kamiya N, Ueda M, Igarashi H, Inaba T, Nishiyama Y, Suda S, Katayama Y: Monitoring of administered autologous bone marrow mononuclear cells via carotid artery in rat transient focal ischemia model using MRI. The 1st World Forum on Cerebral Blood Flow Metabolism and Function. 2010年10月 京都

2) Suda S, Shimazaki K, Ueda M, Inaba T, Kamiya N, Katsura K, Katayama Y: FK506 enhances therapeutic potency of bone marrow stromal cells after experimental stroke in rats. The 1st World Forum on Cerebral Blood Flow Metabolism and Function. 2010年10月 京都

3) Kamiya N, Ueda M, Igarashi H, Nishiyama Y, Suda S, Katayama Y: Monitoring of intra-arterially administered bone marrow mononuclear cells in rat transient focal ischemia model using MRI. The 24th International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism&Function 2009年6月シカゴ

4) Kamiya N, Igarashi H, Nishiyama Y, Ueda M, Katayama Y : In vivo monitoring of transplanted bone marrow mononuclear cells in rat transient focal ischemia model using MRI. The 4th Korean-Japanese Joint Stroke Conference 2008年11月福岡

5) 須田智, 島崎久仁子, 上田雅之, 稲葉俊東, 神谷信雄, 片山泰朗 : ラット脳梗塞モデルにおける急性期骨髄間葉系幹細胞移植・FK506 併用による脳保護増強効果の検討. 第20回日本脳循環代謝学会 2008年11月 東京

6) 神谷信雄, 五十嵐博中, 西山康裕, 上田雅之, 片山泰朗 : ラット局所脳虚血モデルにおけるMRIを用いた自己骨髄細胞移植のモニタリング. 第20回日本脳循環代謝学会 2008年11月 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片山泰朗 (KATAYAMA YASUO)

日本医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号 : 70152692

(2) 研究分担者

上田雅之 (UEDA MASAYUKI)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：00307901

(3) 連携研究者

()

研究者番号：