

論文内容要旨

Interactive effects of cell therapy and
rehabilitation realize the full potential of
neurogenesis in brain injury model

(細胞治療とリハビリテーションの相加効果は
脳損傷モデルマウスにおいて神経新生を促進する)

Neuroscience Letters, 2013, in press.

保健学専攻生体環境適応科学

(主指導教員：弓削 類 教授)

保健学専攻成人健康学

(副指導教員：片岡 健 教授)

保健学専攻健康開発科学

(副指導教員：小林 敏生 教授)

猪村 剛史

【緒言】iPS細胞やES細胞等の万能細胞の発見により再生医療の実用化が加速している。神経再生医療分野においても臨床応用が現実味を帯びており、脳卒中患者に対する骨髄由来細胞を使用した自己幹細胞移植で運動機能回復が促進される治験例が報告されている。移植の効果に関して、細胞移植により一定の効果があることが示されているが、その回復が十分でないケースも報告されている。さらに新生した神経細胞が正しいネットワークを築くことができるか不明であるという報告も散見され、新生ニューロンの正しいネットワーク形成の重要性が示唆されている。従来から、脳損傷に対する機能回復の手段としてリハビリテーションが行われてきた。リスザルを用いた実験で、リハビリテーションが、脳損傷後の神経ネットワークの再教育に影響することが報告されている。細胞移植後にリハビリテーションを行うことで、細胞移植の効果を最大限に引き出すことができる可能性が考えられる。しかし、細胞治療とリハビリテーションの相加効果を検討した報告はみられない。そこで、本研究では、脳損傷モデルマウスを用いて細胞移植後のリハビリテーション効果を検討した。

【方法】脳損傷モデルマウスを作製し、損傷7日後に、細胞移植を行った。移植細胞には、マウスES細胞由来神経幹/前駆細胞を用いた。細胞移植後の運動として、移植翌日よりトレッドミルを使用して運動を行わせた。実験群は、細胞移植のみを行う群 (trans群)、運動のみを行う群 (ex群)、細胞移植後に運動を行う群 (trans+ex群)、治療を実施しない群 (cont群)、頭部切開のみの群 (sham群) の5群とした。運動機能評価には、rotarod test および beam walking test を用いた。組織学的評価として、神経分化マーカーのMAP2およびアストロサイト分化マーカーのGFAPで免疫染色を行い、移植細胞の動態を評価した。また、運動機能回復過程における脳損傷領域での遺伝子発現変化を解析するため、損傷後11, 15, 35日に脳を摘出した。摘出後、損傷領域よりmRNAを抽出し real-time PCR 法を用いて、脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor : BDNF)や成長関連タンパク質 (growth associated protein-43 : GAP43)の発現を解析した。さらに、電気生理学的解析として運動誘発電位 (motor-evoked potential : MEP)を測定した。

【結果】運動機能評価では、cont群と比較してtrans群、ex群で運動機能の改善がみられた。さらに、trans+ex群がすべての群で最も運動機能が改善した。免疫組織学的解析では、MAP2の陽性率は、trans+ex群でtrans群と比較して高かった。損傷領域におけるBDNFやGAP43は、回復初期過程においてtrans+ex群で最も強い発現を示した。MEPの結果として、波形の潜時・持続時間ともにtrans+ex群で最も改善した。

【考察】本研究により、細胞治療とリハビリテーションの相加効果が示された。組織学的解析の結果、移植後に運動を行うことで、移植細胞の神経分化が促進された。移植した細胞が、機能回復に貢献するために、神経細胞に分化するのが良いか、またはグリア細胞に分化するのが良いのかに関して、一致した見解は得られていない。中枢神経損傷後のグリア細胞の増殖によるグリア瘢痕形成は、物質的バリアとなるため、機能回復に

は負の効果をもたらすという報告もある。一方、神経幹細胞の移植後にバルプロ酸を投与することで、移植細胞の神経細胞への分化が促進され、運動機能が改善したことが報告されており、移植細胞を神経細胞へと分化させることは、運動機能改善に正の効果があることが示された。本研究の trans+ex 群で、最も運動機能が改善した要因として、移植のみを行った trans 群と比べ、移植細胞の神経分化が促進されたことによる可能性が考えられる。損傷領域における BDNF や GAP43 の発現は、回復初期に GAP43 は、trans+ex 群で最も強かった。GAP43 は、傷害後の再生ニューロンに強く発現し、傷害後の可塑性に影響することが報告されている。また、BDNF は神経損傷時に発現し、GAP43 発現を誘導することも報告されていることから、細胞移植後の運動介入により生じる運動機能回復は、BDNF-GAP43 経路を介した、移植細胞も含めた神経回路の再編成による可能性が考えられる。

【結語】 細胞移植とリハビリテーションの併用により行動学および電気生理学的改善を促進することが示された。その効果は神経再生関連因子によって生じる可能性が示された。