

内在性自己神経幹(前駆)細胞を用いた脳虚血損傷後の 神経再生誘導療法の可能性

川原 信隆

要 旨：成体哺乳類の中枢神経は、基本的には再生しないと長い間考えられてきた。しかし、最近の研究により、成体哺乳類の脳にも神経幹(前駆)細胞が存在して脳の一部の領域には持続的に神経細胞を供給していることが判明した。本総説では、最近明らかとなった虚血後海馬CA1領域での内在性神経幹(前駆)細胞からの神経再生誘導について詳説した。これらの事実は、虚血性脳障害に対する再生療法の、臨床応用への可能性を広げるものと考えられる。

(J Jpn Coll Angiol, 2004, 44: 237-240)

Key words: neuronal regeneration, endogenous neural progenitor, ischemic neuronal death, growth factor, hippocampus

脳虚血性障害への再生医療の応用

近年の再生医学の発展により胚性幹細胞や胎児脳から得られた細胞を用いた脳内移植療法が注目されているが、腫瘍発生、免疫拒絶、生着率などの問題点を抱えている。一方、成体哺乳類の中枢神経系に自己複製能と多分化能を有した神経幹(前駆)細胞が存在することが明らかとなつてから¹⁻⁵⁾、これらの内在性神経幹細胞を賦活して損傷を受けた中枢神経組織を修復する試みがなされ始めた⁶⁾。移植治療に比較して上記の欠点はないが、部位依存性や分化能などで不明な点が多く、解決されなければならない課題を抱えている。本稿では内在性神経幹細胞の賦活化による脳虚血性障害治療戦略の現状と問題点を、われわれの研究チームが行った結果を紹介しつつ概説する。

Non-neurogenic regionにおける内在性神経幹細胞による持続的神経新生

成体哺乳類中枢神経で持続的に神経新生が生じている部位が判明しており、neurogenic regionとされている(Fig. 1)。ひとつは側脳室に接した線状体の部分で前脳室下帯(anterior subventricular zone: aSVZ)と呼ばれ、ラットでは持続的に嗅球に神経細胞を供給している^{2,3,7)}。今ひとつは海馬歯状回で、顆粒層に接した部

分の顆粒下層(subgranular layer: SGL)に存在する神経幹細胞から持続的な顆粒細胞の新生が生じており^{8,9)}、ヒトでもその存在が示されている¹⁰⁾。これらの場所で持続的に神経新生が生じている生理学的意義については不明である¹¹⁾。しかし、これらの細胞群は脳損傷時の神経細胞供給源としての役割が期待されており、実際種々の損傷応答をすることが知られている。

Non-neurogenic regionでの 内在性神経幹細胞による神経再生

持続的神経新生は、生理的には上記neurogenic regionに限定されていると原則的に考えられている。しかし、最近の研究ではnon-neurogenic regionにおいても内在性神経幹(前駆)細胞による神経再生(修復)が可能であることが示された。

(1) 大脳皮質での神経再生

Magaviらは、成熟マウスの大脳皮質から視床に投射する神経細胞を選択的に破壊し、その再生過程を観察した¹²⁾。その結果、bromodeoxyuridine(BrdU)を取り込んだ新生成熟神経細胞が損傷部位で選択的に観察された。注目されることは、それらの神経細胞が視床と新規の神経回路網を再構築したことを示したことである。本研究は、成体哺乳類の脳が、損傷時には発生期

にも匹敵する内因性再生能力を保持していることを示した点で、非常に意義深いものである。

(2) 海馬CA1領域での神経再生

a) 脳虚血後神経再生

われわれの共同研究チームは、“non-neurogenic region”の一つである海馬CA1領域での神経再生が可能か否か、脳虚血モデルを用いて検証した¹³⁾。ラット一過性前脳虚血後には、同部で神経細胞死が生じ、7日後の正常残存細胞数は1%以下となる。28日後に観察すると、その細胞数は7%程度に回復しており、内因性神経再生機構が同部にも存在していることが示唆された。そこで、神経幹細胞の分離培養に用いられるFGF-2とEGFを、虚血後2日から3日間脳室内に持続投与して内在性神経幹細胞を賦活する療法を試みた。驚いたことに、CA1領域での神経細胞数は平均で正常の40%にまで回復しており、成熟神経細胞のマ - カ - であるNeuNを発現していた(Fig. 2)。

b) 後脳室壁(傍海馬脳室壁)での神経幹(前駆)細胞の増殖と遊走

従来は、内在性の神経前駆細胞は前脳室下帯(aSVZ)と海馬歯状回顆粒下層(SGL)の2カ所であると考えられていたが、上記虚血後に成長因子を投与すると海馬CA1に接する脳室壁で著明な細胞増殖が生じ(BrdU取り込み細胞の出現)、それらの細胞が時間経過とともにCA1錐体細胞層に遊走しつつ成熟神経細胞に分化することが判明した(Fig. 3)。この事実は、脳損傷と成長因子投与などの特殊な条件下とはいえ、動員可能な(dormant)神経幹(前駆)細胞が成体哺乳類脳内に広範に存在している可能性を示した点で意義深い。

c) 再生神経細胞の機能

われわれの検討では、再生したCA1領域の神経細胞は新たな神経軸索と樹状突起を延ばし、既存の神経回路網に組み込まれていることを、形態学的、電気生理学的に証明することができた。さらに、個体レベルでの認知機能も明らかに改善傾向を示し、再生神経細胞による機能再建が可能であることが示された。

内在性神経幹(前駆)細胞賦活化療法の 今後の展望

上記海馬での虚血後の神経再生が、成長因子の投与で個体レベルの機能再建にまでつながったことは、

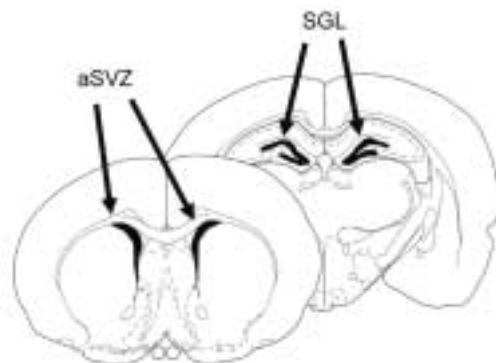


Figure 1

Neurogenic regions in the mature adult brain which provide continuous neurogenesis.

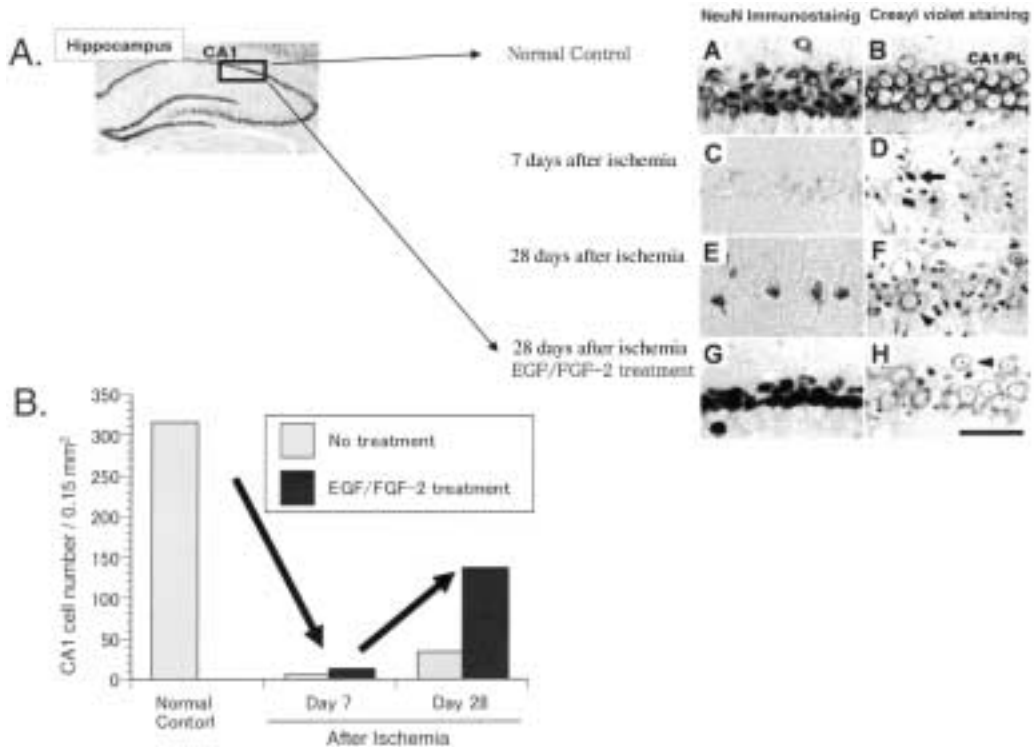
Two regions, anterior subventricular zone (aSVZ) and subgranular layer of the dentate gyrus of the hippocampus, are known to continue neurogenesis in the mature adult brain.

aSVZ: anterior subventricular zone, SGL: subgranular layer in the dentate gyrus

ラットにおける動物実験とはいえ、今後の再生治療に新たな方向性を与える事実を示した。第一に、成長因子の投与という単純な増殖刺激を与えることで、以後の遊走、分化、部位に適した表現型の獲得などが自然に行われたことである。成体脳でも驚くべき内因性の損傷修復機構を維持していると考えらるべきであろう¹⁴⁾。第二に、従来non-neurogenic regionと考えられていた部位での再生に成功したことである。その後も、中脳中心管近傍における神経幹細胞からの増殖、修復機構が存在することが報告されている¹⁵⁾。これらの知見は、non-neurogenic regionと考えられている部位での内在性神経幹細胞賦活化療法の可能性を大きく広げるものである。成体脳内に存在する神経幹細胞の増殖、分化機構がさらに分子レベルで解明され、脳血管障害患者への内在性自己神経幹細胞賦活化療法が現実のものとなる日も、決して遠い未来のことではないと考えている。

謝 辞

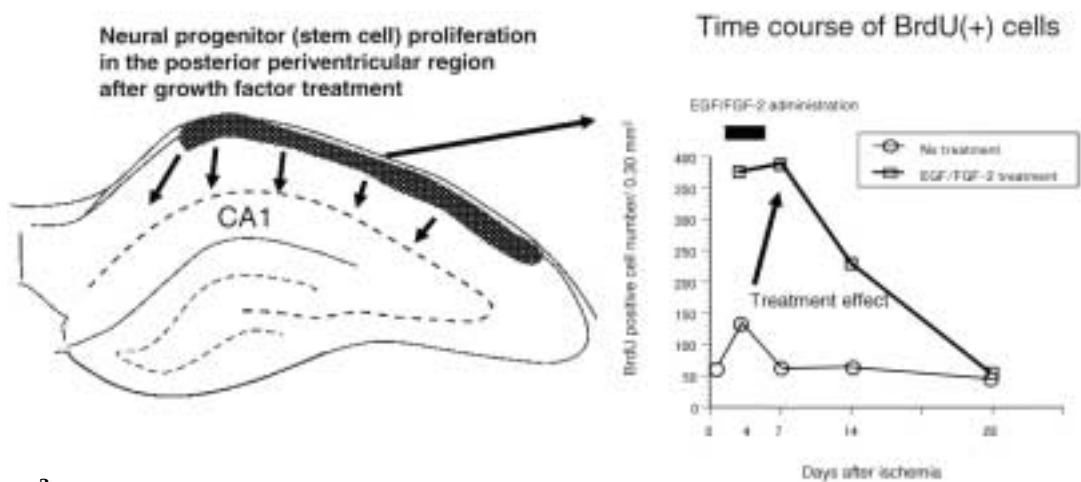
本稿で紹介した海馬神経再生の研究は、東京大学大学院医学系研究科神経生物学教室の中福雅人博士、東京医科歯科大学細胞相関機構学教室の岡部繁男および栗生俊彦両博士、および帝京大学脳神経外科教室の田村晃博士と当教室との共同研究の結果であり、また、実際の研究は当教室大学院生中富浩文君が行ったものであります。関係各位に改めて感謝を致します。

**Figure 2**

Ischemic neuronal death and regeneration in the hippocampal CA1 region.

A: In the hippocampal CA1 region, most neurons die after transient global ischemia by 7 days as shown by cresyl violet staining and NeuN (neuronal marker) immunostaining. At 28 days, a few neurons can be seen when compared with that at 7 days, indicating some endogenous capacity of neurogenesis. However, after administration of growth factors (EGF and FGF-2), many new neurons can be identified in this layer.

B: By quantitative measurement of cell number, growth factor treatment led to recovery of approximately 40% neurons, showing marked effect of this treatment.

**Figure 3**

Proliferation, differentiation, and migration of endogenous neural progenitors in the posterior periventricular region.

In the normal physiological state, cell proliferation in the posterior periventricular region adjacent to CA1 is minimal. However, after ischemia and growth factor treatment, prolonged and marked enhancement of proliferative response is obtained in this region. Furthermore, these neural progenitors migrate to CA1 region while differentiating into mature neurons.

文 献

- 1) Altman J, Das GD: Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol*, 1965, **124**: 319–335.
- 2) Reynolds BA, Weiss S: Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*, 1992, **255**: 1707–1710.
- 3) Richards LJ, Kilpatrick TJ, Bartlett PF: De novo generation of neuronal cells from the adult mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**: 8591–8595.
- 4) Nunes MC, Roy NS, Keyoung HM et al: Identification and isolation of multipotential neural progenitor cells from the subcortical white matter of the adult human brain. *Nat Med*, 2003, **9**: 439–447.
- 5) Weiss S, Dunne C, Hewson J et al: Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis. *J Neurosci*, 1996, **16**: 7599–7609.
- 6) Arlotta P, Magavi SS, Macklis JD: Molecular manipulation of neural precursors in situ: induction of adult cortical neurogenesis. *Exp Gerontol*, 2003, **38**: 173–182.
- 7) Luskin MB: Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron*, 1993, **11**: 173–189.
- 8) Cameron HA, Gould E: Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience*, 1994, **61**: 203–209.
- 9) Kaplan MS, Bell DH: Mitotic neuroblasts in the 9-day-old and 11-month-old rodent hippocampus. *J Neurosci*, 1984, **4**: 1429–1441.
- 10) Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T et al: Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*, 1998, **4**: 1313–1317.
- 11) Gould E, Tanapat P, Hastings NB et al: Neurogenesis in adulthood: a possible role in learning. *Trends Cogn Sci*, 1999, **3**: 186–192.
- 12) Magavi SS, Leavitt BR, Macklis JD: Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice. *Nature*, 2000, **405**: 951–955.
- 13) Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S et al: Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell*, 2002, **110**: 429–441.
- 14) Arvidsson A, Collin T, Kirik D et al: Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med*, 2002, **8**: 963–970.
- 15) Zhao M, Momba S, Delfani K et al: Evidence for neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 7925–7930.

New Regenerative Therapy for Ischemic Brain Injury by Recruitment of Endogenous Neural Stem Cells

Nobutaka Kawahara

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan

Key words: neuronal regeneration, endogenous neural progenitor, ischemic neuronal death, growth factor, hippocampus

The mature adult brain has long been considered a non-regenerating organ. Recent research, however, has shown that endogenous neural progenitors (stem cells) exist within the adult brain, which continue to generate new neurons into the specialized neurogenic regions. Here we provide evidence that the hippocampal CA1 neurons, known as “non-neurogenic”, can also be regenerated after ischemic injury by growth factor administration through recruitment of neural progenitors, where newly generated neurons restore electrophysiological properties, and improve cognitive function. This neuronal replacement therapy by endogenous progenitors/stem cells would provide a new therapeutic approach to stroke. (J Jpn Coll Angiol, 2004, **44**: 237–240)