

2004-00780A

厚生労働科学研究研究費補助金

こころの健康科学研究事業

骨髄間質細胞からの神経並びに筋細胞の選択的誘導と
パーキンソン病・筋ジストロフィーへの自家移植治療法の開発

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 出沢 真理

平成17(2005)年 3月

目 次

I. 総括研究報告書		
骨髄間質細胞からの神経並びに筋細胞の選択的誘導とパーキンソン病・筋ジストロフィーへの自家移植治療法の開発	-----	1
出沢 真理		
II. 分担研究報告		
1. 骨髄間質細胞からの神経分化機構の解明	-----	30
星野 幹雄		
2. 骨髄間質細胞からの神経細胞誘導とパーキンソンモデル動物への移植	-----	60
菅野 洋		
3. 幹細胞としての筋衛星細胞の単離と遺伝子発現解析	-----	80
武田伸一		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	140
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	150

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
総括研究報告書

骨髄間質細胞からの神経並びに筋細胞の選択的誘導とパーキンソン病・
筋ジストロフィーへの自家移植治療法の開発（課題番号 16191501）

主任研究者 出沢真理 京都大学医学研究科・助教授

研究要旨 骨髄間質細胞は倫理問題なく患者本人から採取容易であり、増殖性に優れた細胞である。この細胞から機能的な神経細胞および骨格筋細胞を他の要素を含む事なく選択的に誘導する方法を開発し、現在有効な治療法の無い神経・骨格筋変性疾患に対する細胞移植治療の突破口を開くことを目的とする。平成16年度は神経細胞及び骨格筋細胞の選択的な誘導法の開発と誘導機構の理論的裏付けを行い、移植実験に向けた基盤を作る。

A. 研究目的 組織としての再生能力の無い神経および筋肉の変性疾患の多くは、根本治療法のないまま現在に至っている。骨髄間質細胞は倫理問題無く患者から容易に採取可能であり、旺盛な増殖能力を備えている。従って神経・筋肉など特定の細胞への有効な誘導法の開発は、免疫拒絶反応の無い「自己再生システム」を可能とし、有効な治療法の無い難病及び高齢化に伴い増大する変性疾患治療の突破口となる。

本研究では臨床的導入を視野に入れて16年度から18年度の間(1)分化誘導機構の解明 (2)Notch 遺伝子導入に換わる合成蛋白質を用いた誘導法の探索 (3)パーキンソン及び筋ジストロフィーモデル動物における移植評価、の研究項目を推進する。平成16年度は以下の構成で研究を推進した。

- 1) 骨髄間質細胞からの神経誘導（出沢）
- 2) 神経細胞の誘導機構（星野）
- 3) 骨髄間質細胞からの骨格筋誘導（出沢）
- 4) 骨格筋細胞と筋衛星細胞との比較検討（武田）
- 5) 誘導神経細胞のパーキンソンモデル動物への移植（菅野）

B. 研究方法 骨髄間質細胞はラット及びヒトからの細胞を用いた。

1) 骨髄間質細胞からの神経誘導： Notch 遺伝子は神経や筋肉などの多くの発生分化を制御しており、未分化細胞の維持、神経・グリア分化の制御、骨格筋分化の制御、後期発生における形態形成に関与している。我々は骨髄間質細胞に Notch 細胞質ドメイン(NICD)遺伝子を導入することによって細胞が神経幹細胞様に変化することを見いだした。さらにこれらの細胞にサイトカインを投与することによって選択的に神経細胞が誘導されることを発見した。PCI-neo-NICD をリポフェクションにて導入し、G418 によって選択した。その後、細胞を60% confluency に継代培養し、bFGF, CNTF, 細胞内 cAMP 上昇剤である Forskolin を同時投与することによって神経細胞を選択的に誘導した。誘導された神経細胞の機能的形態的評価を行った。**2) 神経細胞の誘導機構：** さらに誘導機構を解析するために RT-PCR、deletion mutant の作成と導入実験を行った（分担報告書、星野参照）。**3) 骨髄間質細胞からの骨格筋誘導：** 神経誘導とは逆に bFGF, Forskolin, PDGF, Neuregulin などのサイトカイン投与を行い、その後に pCI-neo-NICD を導入し G418 にて選択し、100% confluent に達したところで2% ウマ血清を投与することによって多核の骨格筋を誘導した。骨格筋の特性の解析として clonal culture を行い、また RT-PCR, Western blot などの方法を用いて分化転換の機構を解析した。**4) 骨格筋細胞と筋衛星細胞との比較検討：** 衛星細胞の培養を確立し、衛星細胞を特異的に標識する抗体を作成した。またマイクロアレーを行い、筋衛星細胞の特性を解析した（分担報告書、武田参照）。**5) 誘導神経細胞のパーキン**

ソンモデル動物への移植: 6-OHDA を用いたラットのパーキンソンモデル動物を作成し、誘導した神経細胞を移植する(分担報告、菅野参照)。

(倫理面への配慮) 本プロジェクト全般において組み換え DNA 実験とモデル作成・移植における動物実験は各所属機関の組み換え DNA 実験委員会と動物実験委員会の指針に従って研究計画書を提出し、医学部長、研究所長、委員長等の機関承認を得た後に実施した。

ラットの骨髄間質細胞の分化誘導並びに分子生物学的解析は京都大学を中心に行うが、すでに京都大学大学院医学研究科・医学部動物実験委員会の承認を得ている

(「骨髄間質細胞の神経細胞への分化誘導とパーキンソンモデルへの応用」承認番号: MedKyo04246 / 「骨髄間質細胞の骨格筋細胞への分化誘導と移植応用」承認番号: MedKyo04245)。また実験に際しては動物の苦痛の軽減を極力配慮し、麻酔等の徐痛処置を行った。ヒト骨髄間質細胞は BioWhittaker 社の細胞を用いるので倫理上問題はない。Notch の遺伝子導入実験は京大の組み替え DNA 実験委員会の了承を得て行なっている(「神経系細胞への分化転換の遺伝子機構について」承認番号: (研研2第121-2号)。尚「体細胞の神経系および骨格筋細胞への分化転換の遺伝子機構について」も承認を受けている(承認番号: 研研2第224-2号)。

C. 研究成果 1) 骨髄間質細胞からの神経

誘導: ヒトおよびラットの骨髄間質細胞において Notch 遺伝子を導入することによって神経幹細胞様に分化転換し、nestin, GLAST, 3-PGDH などのマーカーを発現することを見いだした。特に 3-PGDH においては転写活性が約 10 倍に上昇した。これらの細胞にサイトカイン刺激 (bFGF, CNTF, Forskolin) を与えると 96% の細胞が post-mitotic neuron になり、一部の細胞では活動電位を記録することが出来た。これらの神経細胞は MAP2-ab, Neurofilament, beta3-tubulin などの神経マーカーを発現することが免疫染色および Western blot において確認された。この最終産物にはグリア細胞が一切含まれておらず、神経細胞だけで最終産物が構成されていることもわかった。グリア細胞のマーカーである GFAP, O4, ガラクトセレブロシドなどは免疫染色、Western blot でも検出されず、RT-PCR においても GFAP が検出されなかった。また

NeuroD, GFAP の転写活性を調べると神経誘導に伴い NeuroD の活性は 50 前後の luciferase 活性が 140 前後に上昇するが、一方 GFAP は 4~5 の活性が 0.5 ほどに減少した。これらのことから最終産物はほぼ、神経細胞のみで構成されることが裏付けられた。

2) 神経細胞の誘導機構: 誘導メカニズムとして Notch の欠損変異 (deletion mutant) を導入し調べた。その結果 ankyrin repeats ドメインに JAK-STAT 系抑制効果があり、STAT の抑制を介して神経誘導が行われていることが分かった(分担報告書、星野参照)。

3) 骨髄間質細胞からの骨格筋誘導機構:

神経誘導とは逆にサイトカイン刺激を行った後に Notch を導入すると Pax7+ の satellite cell が、さらに引き続き筋芽細胞が選択的に誘導される。その後、特定の因子から構成する fusion induction をかけることによって筋芽細胞の融合が促進され、自発的な収縮能を持つ多核の骨格筋細胞が得られる。最終産物では骨格筋のマーカーである MyoD, myogenin, MRF4 などの発現が確認された。筋芽細胞を cardiotoxin で障害した rat および筋ジストロフィーのモデルマウスである mdx-nude mouse の前脛骨筋に移植すると、生着し dystrophin の発現を認めた。

4) 骨格筋細胞と筋衛星細胞

との比較検討: 筋衛星細胞を特異的に認識するモノクローナル抗体を作成し、97% 以上の純度の衛星細胞の培養を樹立した。マイクロアレイを用いて遺伝子発現を解析したところ特に細胞接着、細胞外マトリックス、ホストの防御に関わる遺伝子が静止期筋衛星細胞に多く発現していることがわかった(分担報告、武田参照)。

5) 誘導神経細胞のパーキンソンモデル動物への移植:

誘導された神経細胞にさらに GDNF を投与するとドーパミン作動性ニューロンが 40% 近くに増加し、これらの細胞をパーキンソンモデルラットの線状体に移植したところ、apomorphin 誘導の異常回転運動の顕著な症状改善を認めた。また移植後の脳内でのドーパミン産生も HPLC において確認している(分担報告、菅野参照)。

D. 考察 骨髄間質細胞から機能的な神経細胞および骨格筋細胞を非常に高い高率で選択的に誘導する方法が見いだされた。いずれも骨髄間質細胞の自発的な脱分化に頼るのではなく、発生分化を制御する因子を一定の推論に基づいて経時的に投与する方法であり、その分化転換機構は神経および骨格筋の発生過程と部分的に一致したもので

あることが分かった。特に神経細胞誘導では骨髄間質細胞に Notch 遺伝子を入れることによって神経幹細胞様に一旦分化させ、特定のサイトカインを投与することによって神経細胞へ選択的に誘導するものであった。骨格筋では最初のサイトカイン投与によって Pax7 陽性の骨格筋幹細胞様マーカーの発現が最初に認められ、次いで Notch が導入されることによって MyoD, Myogenin などの骨格筋マーカーが順次発現されることを見いだした。従って本方法は理論的な基盤に基づいた誘導システムであると考えられる。

E. 結論 骨髄間質細胞は倫理問題なく容易に採取可能な細胞である。また培養において旺盛に増殖するのでこの細胞から大量に効率よく神経細胞、骨格筋細胞が誘導される本方法は根本治療の無い神経および筋肉変性疾患への細胞移植治療において現実的な有効性があると考えられる。次年度においては臨床応用を目標に各種動物モデルへの移植を行い、その有効性を検討する。

F. 健康危険情報 無し

G. 研究発表

1. 論文発表

【欧文原著】

1. Dezawa M, Kanno H, Hoshino M, Cho H, Matsumoto N, Itokazu Y, Tajima N, Yamada H, Sawada H, Ishikawa H, Mimura T, Kitada M, Suzuki Y, Ide C. Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. *J Clin Invest*. 113(12):1701-10, 2004.
2. Watanabe Y, Matsumoto N, Dezawa M, Itokazu Y, Yoshihara T, Ide C. Conditioned medium of the primary culture of rat choroid plexus epithelial (modified ependymal) cells enhances neurite outgrowth and survival of hippocampal neurons. *Neurosci Lett* (in press).
3. Xu Y, Tamamaki N, Noda T, Kimura K, Itokazu Y, Matsumoto N, Dezawa M, Ide C. Neurogenesis in the ependymal layer of the adult rat 3rd ventricle. *Exp Neurol*. 192(2):251-64, 2005.
4. Kamada T, Koda M, Dezawa M, Yoshinaga K, Hashimoto M, Koshizuka S, Nishio Y, Moriya H, Yamazaki M. Transplantation of bone marrow stromal cell-derived Schwann cells promotes axonal regeneration and functional recovery after complete transection of adult rat spinal cord. *J Neuropathol Exp Neurol*. 64(1):37-45, 2005.
5. Ishikawa H, Takano M, Matsumoto N, Sawada H, Ide C, Mimura O, Dezawa M. Effect of GDNF gene transfer into axotomized retinal ganglion cells using in vivo electroporation with a contact lens-type electrode. *Gene Ther*. 12(4):289-98, 2005.
6. Mimura T, Dezawa M, Kanno H, Sawada H, Yamamoto I. Peripheral nerve regeneration by transplantation of bone marrow stromal cell-derived Schwann cells in adult rats. *J Neurosurg*. 101(5):806-12, 2004.
7. Ohta M, Suzuki Y, Chou H, Ishikawa N, Suzuki S, Tanihara M, Suzuki Y, Mizushima Y, Dezawa M, Ide C. Novel heparin/alginate gel combined with basic fibroblast growth factor promotes nerve regeneration in rat sciatic nerve. *J Biomed Mater Res*. 71(4):661-8, 2004.
8. Miyawaki T, Uemura A, Dezawa M, Yu RT, Ide C, Nishikawa S, Honda Y, Tanabe Y, Tanabe T. Tlx, an orphan nuclear receptor, regulates cell numbers and astrocyte development in the developing retina. *J Neurosci*. 24(37):8124-34, 2004.
9. Dezawa M, Kanno H, Hoshino M, Cho H, Matsumoto N, Itokazu Y, Tajima N, Yamada H, Sawada H, Ishikawa H, Mimura T, Kitada M, Suzuki Y, Ide C. Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. *J Clin Invest*. 113(12):1701-10, 2004.

10. Ohta M, Suzuki Y, Noda T, Kataoka K, Chou H, Ishikawa N, Kitada M, Matsumoto N, Dezawa M, Suzuki S, Ide C. Implantation of neural stem cells via cerebrospinal fluid into the injured root. **Neuroreport**. 15(8):1249-53, 2004.
11. Ohta M, Suzuki Y, Noda T, Ejiri Y, Dezawa M, Kataoka K, Chou H, Ishikawa N, Matsumoto N, Iwashita Y, Mizuta E, Kuno S, Ide C. Bone marrow stromal cells infused into the cerebrospinal fluid promote functional recovery of the injured rat spinal cord with reduced cavity formation. **Exp Neurol**. 187(2):266-78, 2004.
12. Takano Y, Ohguro H, Dezawa M, Ishikawa H, Yamazaki H, Ohguro I, Mamiya K, Metoki T, Ishikawa F, Nakazawa M. Study of drug effects of calcium channel blockers on retinal degeneration of rd mouse. **Biochem Biophys Res Commun**. 313(4):1015-22, 2004.

【欧文総説】

1. Dezawa M, Hoshino M, Nabeshima Y, Ide C. Marrow stromal cells: implications in health and disease in the nervous system. **Current Molecular Medicine** (in press).
2. Dezawa M, Matsumoto N, Ohta M, Itokazu Y, Suzuki Y, Ide C. Cell transplantation for neurodegenerative and neurotraumatic disorders. **Current Trends in Neurology** (in press).
3. Dezawa M, Hoshino M, Ide C. Treatment of neurodegenerative diseases using adult bone marrow stromal cell-derived neurons. **Expert Opinion on Biological Therapy** (in press)

【欧文著書】

1. Dezawa M, So KF. Regeneration of optic nerve. **Encyclopedic Reference of Neuroscience**. Eds. MD Binder, N Hirokawa, U Windhorst, Springer (in press)
2. Ide C, Dezawa M, Matsumoto N, Itokazu Y. Regeneration (synopsis). **Encyclopedic Reference of**

Neuroscience. Eds. MD Binder, N Hirokawa, U Windhorst, Springer (in press).

3. Dezawa M. Schwann cell interactions with the axon and with CNS glial cells during optic nerve regeneration, in Leif Hertz (eds): **Non-Neuronal Cells in the Nervous System: Function and Dysfunction. Advances in Molecular Cell Biology**. Vol 31, p.329-345 Elsevier, 2004.

2. 学会発表

【シンポジウム・特別講演】

1. 出澤真理、骨髄間質細胞からの神経並びに骨格筋への選択的誘導法開発：変性疾患における自己再生システム系の確立を目指して。第22回神経組織培養研究会 東京 2005。
2. Dezawa M. Specific induction of functional neurons from bone-marrow stromal cells applicable for neurodegenerative diseases. 4th Asia Pacific Symposium on Neural Regeneration. Osaka, 2004.
3. Dezawa M. Specific differentiation of functional neurons from bone-marrow stromal cells and application for a rat model of Parkinson's disease. International Symposium on "Adult Neurogenesis in Normal and Pathological Conditions". Okazaki, 2004.
4. 出澤真理、骨髄間質細胞の神経・グリア細胞への分化転換および神経再生医療への応用。日本眼科学会専門医制度 第41回講習会、東京 2004.
5. Dezawa M. Specific induction of functional neurons from bone-marrow stromal cells and application for Parkinson's disease model rats. 16th International Congress of the IFAA, International Federation of Associations of Anatomists, Kyoto, 2004. (Symposist & Organizer)
6. Dezawa M. Rescue of damaged retinal ganglion cells by gene transfer using in vivo electroporation. XVI International Congress of Eye Research. Sydney, Australia, 2004. (Symposist & Organizer)
7. 出澤真理、骨髄間質細胞の自家移植を用いた脳神経再生への挑戦と未来展望。

- 第16回日本頭蓋底外科学会（ランチョンセミナー）、横浜、2004.
8. 出澤真理、骨髄間質細胞からの選択的誘導法の確立と再生医療への応用。第8回遺伝子医療研究会、大阪、2004.
- 【一般講演】
1. 染谷幸男、国府田正雄、山崎正志、鎌田尊人、西尾豊、守屋秀繁、出澤真理、吉永勝訓。ラット脊髄圧挫モデルに対する骨髄間質細胞由来 Schwann 細胞移植の試み。第4回再生医療学会、大阪、2005
 2. 菅野洋、久保篤彦、味村俊郎、山本勇夫、前田和彦、山崎吉以、斎藤知行、中野修一、杉本直己、出澤真理。機能性VHLオリゴペプチドによる体性幹細胞の神経分化誘導とその神経再生医療への応用。第4回再生医療学会、大阪、2005.
 3. 鎌田尊人、国府田正雄、出澤真理、吉永勝訓、西尾豊、染谷幸男、大河昭彦、政木豊、守屋秀繁、山崎正志。ラット脊髄圧挫モデルに対するヒト骨髄間質細胞由来 Schwann 細胞移植の試み。第4回再生医療学会、大阪、2005
 4. 鎌田尊人、国府田正雄、出澤真理、吉永勝訓、西尾豊、山崎正志。ラット脊髄圧挫モデルに対するヒト骨髄間質細胞由来。第39回脊髄障害医学会、東京、2004.
 5. T. Kamada, M. Koda, M. Dezawa, K. Yoshinaga, Y. Nishio, Y. Someya, A. Okawa, Y. Masaki, H. Moriya, M. Yamazaki. Transplantation of Human Bone Marrow Stromal Cell-Derived Schwann Cells into Contused Adult Rat Spinal Cord. The Society for Neuroscience's 34th Annual Meeting in San Diego, USA, October, 2004
 6. 鈴木義久、張弘富、太田正佳、石川奈美子、鈴木茂彦、出澤真理、井出千束。脳脊髄液経路にニューロスフェア、骨髄間質細胞を脊髄損傷部へ移植する新しい方法（シンポジウム）。第27回日本神経科学大会、大阪、2004.
 7. 出澤真理、菅野洋、鈴木義久、張弘富、井出千束。骨髄間質細胞からの神経細胞誘導法とパーキンソンモデルラットへの移植応用。第27回日本神経科学大会、大阪、2004.
 8. 菅野洋、久保篤彦、味村俊郎、村田英俊、山本勇夫、前田和彦、山崎吉以、中野修一、杉本直己、出澤真理。遺伝子/機能性ペプチド導入による体性幹細胞の神経分化誘導とその神経再生医療への応用（シンポジウム）。第63回日本脳神経外科学会総会 名古屋 2004.
 9. 菅野洋、久保篤彦、味村俊郎、村田英俊、山本勇夫、前田和彦、山崎吉以、斎藤知行、中野修一、杉本直己、油谷浩幸、出澤真理。VHL 遺伝子/機能性ペプチド導入による幹細胞の神経分化機構の解明とその神経再生医療への応用（シンポジウム）。第5回分子脳神経外科学会 東京、2004.
 10. 鎌田尊人、国府田正雄、出澤真理、吉永勝訓、橋本将行、腰塚周平、西尾豊、守屋秀繁、山崎正志。ラット脊髄損傷モデルに対する骨髄間質細胞由来 Schwann 細胞移植の試み。第33回日本脊椎脊髄病学会、東京、2004.
 11. 鈴木義久、張弘富、太田正佳、石川奈美子、鈴木茂彦、出澤真理、井出千束。脳脊髄液経路にニューロスフェア、骨髄間質細胞を脊髄損傷部に移植する新しい方法。第27回日本神経科学大会、大阪、2004.
 12. N. Matsumoto, K. Kimura, S. Chakraborty, Y. Watanabe, M. Kitada, Y. Itokazu, M. Dezawa, C. Ide. Effects of grafting of choroids plexus ependymal cells on CNS injuries (Symposium). 16th International Congress of the IFAA, International Federation of Associations of Anatomists, Kyoto, 2004.
 13. Y. Xu, N. Tamamaki, T. Noda, K. Kimura, Y. Itokazu, N. Matsumoto, M. Dezawa, C. Ide. Neurogenesis in the adult rat hypothalamus (Symposium). 16th International Congress of the IFAA, International Federation of Associations of Anatomists, Kyoto, 2004.
 14. N. Matsumoto, Y. Watanabe, M. Ohta, A. Taguchi, T. Yoshihara, Y. Itokazu, M. Dezawa, H. Kitayama, M. Noda, C. Ide. A new strategy for neuroprotection from ischemic cerebral injury: transplantation of choroids plexus ependymal cells through cerebrospinal fluid (Symposium). 16th International

- Congress of the IFAA, International Federation of Associations of Anatomists, Kyoto, 2004.
15. Y. Itokazu, M. Kitada, A. Mizoguchi, N. Matsumoto, M. Dezawa, C. Ide. Choroid plexus ependymal cells host neural progenitor cells. 16th International Congress of the IFAA, International Federation of Associations of Anatomists, Kyoto, 2004.
 16. M. Ohta, Y. Suzuki, H. Chou, N. Ishikawa, S. Suzuki, T. Noda, N. Matsumoto, M. Dezawa, C. Ide. Bone marrow stromal cells infused into the cerebrospinal fluid promote functional recovery of the injured rat spinal cord with reduced cavity formation. 16th International Congress of the IFAA, International Federation of Associations of Anatomists, Kyoto, 2004.
 17. Y. Watanabe, N. Matsumoto, M. Dezawa, Y. Itokazu, T. Yoshihara, C. Ide. Conditioned medium of the primary culture of rat choroids plexus ependymal cells enhances neurite outgrowth and survival of neurons derived from hippocampus. 16th International Congress of the IFAA, International Federation of Associations of Anatomists, Kyoto, 2004.
 18. H. Ishikawa, M. Takano, O. Mimura, C. I. de, M. Dezawa. The Rescue of axotomized retinal ganglion cells by in vivo electroporation of GDNF gene using contact type electrodes. 16th International Congress of the IFAA, International Federation of Associations of Anatomists, Kyoto, 2004.
 19. T. Miyawaki, A. Uemura, M. Dezawa, T. Tanabe. Tlx, an orphan nuclear receptor, is critical for the control of retinal cell numbers and glial development. Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2004
 20. S. Yu, T. Miyawaki, M. Dezawa, H. Chou, T. Tanabe. Transplantation of bone marrow stromal cells to an experimental glaucoma model. Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2004
 21. 菅野洋、味村俊郎、出澤真理、山本勇夫。VHL 遺伝子導入による神経幹細胞の神経分化誘導と導入細胞の移植による脳梗塞の治療 第29回日本脳卒中学会 名古屋 2004
 22. 出澤真理、張弘富、松本直也、糸数裕、石川裕人、鈴木義久、井出千束、骨髄間質細胞からの選択的神経細胞誘導とパーキンソンモデルへの応用 第19回神経組織の成長・再生・移植研究会学術集会 岐阜 2004
 23. 石川裕人、高野雅彦、三村治、出澤真理。網膜神経節細胞への新しい遺伝子導入方法の開発と視神経切断モデルへの GDNF 遺伝子導入と生存効果。第3回日本再生医療学会 千葉幕張、2004
 24. 張弘富、鈴木義久、太田正佳、石川奈美子、鈴木茂彦、出澤真理、井出千束。骨髄間質細胞より分化させたシュワン細胞移植によるラット脊髄損傷治療。第3回日本再生医療学会 千葉幕張、2004
 25. 太田正佳、鈴木義久、張弘富、片岡和哉、石川奈美子、出澤真理、鈴木茂彦、井出千束。海馬由来神経幹細胞移植による引き抜き損傷の治療法の開発。第3回日本再生医療学会 千葉幕張、2004
 26. 鈴木義久、太田正佳、張弘富、石川奈美子、片岡和哉、鈴木茂彦、出澤真理、井出千束。脊髄損傷に治療の開発。第3回日本再生医療学会 千葉幕張、2004
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
 1. 「骨格筋細胞の誘導方法」(出願番号:特願 2004-372656)
発明代表者: 出澤真理 発明者: 出澤真理、星野幹雄、鍋島陽一
出願人 社団法人芝蘭会
出願日 2004年12月24日
 2. Method of differentiating/inducing bone marrow interstitial cells into nerve cells and skeleton muscle cells by transferring Notch gene. European Patent Office Application

No./Patent No. 03703224:0-2405-
JP0301260. Date of filing. 10.09.04.
Applicant/Proprietor Sanbio, Inc.

Inventor: Mari Dezawa

3. Neuronal Progenitor Cells and
Methods of Making Them

(国際出願番号 60/561613)

Inventor: Mari Dezawa

Assignee: SanBio Inc. USA, Date
of patent application: 2004,
April, 12

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

分担研究報告書

分担研究者 星野幹雄 京都大学医学研究科・助手

研究要旨 本研究分担者は、MSC から神経細胞へいかなる分子機構で誘導されるのかについて調べ、STAT1/3 系の関与をある程度明らかにした。さらに、移植細胞の細胞移動、定着機構を理解するために、神経細胞移動の分子機構も調べ、その一端を明らかにした。

A. 研究目的 1、骨髄間質細胞 (MSC) から、神経細胞へと分化誘導する過程において、いかなる分子機構が作用しているのかについて明らかにする。2、また、パーキンソン病などの神経変性疾患に対する移植治療のためには、移植細胞が障害部位へと遊走・細胞移動し定着することが必須であるため、特に神経細胞移動の分子機構についても調べ、その成果を移植の生着率の向上のために役立てていこうと考えている。

B. 研究方法

1、神経細胞への各分化誘導段階において、それぞれの MSC 由来細胞を回収し、RT-PCR 法によって、Notch, Mash1, Math1, Neurogenin1, Hes1, Hes5, STAT1, STAT3 などの発現量を調べた。2、子宮内エレクトロポレーション法を応用することによって、神経細胞移動に関与する分子機構について検討した。

(倫理面への配慮)

利用するマウス、ラット個体は、麻酔をかけてから速やかに処理をし、動物に苦痛が生じないように配慮している。

C. 研究成果

1、Notch 遺伝子導入によって MSC における STAT1/3 の発現が抑制されることが明らかになった。また、その細胞 (N-MSC) に対して Trophic factor induction を行うと Hes1/5 の発現が減少することも明らかになったが、この現象が神経細胞への分化誘導には直接関与しないことが示唆された。2、マウス胚への子宮内エレクトロポレーション法により、大脳皮質での神経細胞移動には、STEF/Tiam1-Rac1-JNK-MAP1B というシグナリングカスケードが中心的な働きを果たしている事が明らかになった。

D. 考察 MSC からの神経分化誘導には、Notch シグナルの活性化が必要であるが、Hes1/5 非依存性細胞内下流カスケードが使われているらしい。Jak/STAT 阻害剤によっても、部分的に Notch 導入と同様な効果が見られたことから、Notch シグナルによって STAT の発現が抑制されることが、MSC が神経細胞へと分化しうる細胞になるために最も重要であることが示唆された。また、子宮内エレクトロポレーションを用いた実験により、Rac1 を中心とした新たなシグナリングカスケードが神経細胞移動に重要な役割を果たしている事がわかった。これは、移植細胞の障害部位への定着を助けるために Rac1 経路の活性化などが役に立つかもしれないことを示唆している。

E. 結論 未だに、MSC から神経細胞への分化誘導の分子機構を全て概括できるだけの情報を得るには至っていない。さらに、様々な遺伝子の発現プロファイルを調べ、またそれらを遺伝子導入して分化誘導に与える影響を調べる事によって、より詳細な分子機構を明らかにする事を目指す。神経細胞移動の分子機構については、ある程度まとまった成果が得られたが、さらにより詳しい機構について調べて行く。

G. 研究発表

1. 論文発表

PAR-6-PAR-3 mediates Cdc42' signaling to Rac activation through STEF/Tiam1, RacGEFs. Takashi Nishimura, Tomoya Yamaguchi, Katsuhiko Kato, Masato Yoshizawa, Yo-ichi Nabeshima, Shigeo Ohno, Mikio Hoshino, and Kozo Kaibuchi
Nature Cell Biol. in press
Specific induction of neuronal cells from bone-marrow stromal cells and

application for autologous transplantation. Mari Dezawa, Hiroshi Kanno, Mikio Hoshino, Hiroto Cho, Naoya Matsumoto, Yutaka Itokazu, Nobuyoshi Tajima, Hitoshi Yamada, Hajime Sawada, Hiroto Ishikawa, Toshirou Mimura, Masaaki Kitada, Yoshihisa Suzuki & Chizuka Ide *J. Clin. Invest.*, 113, 1701-1710 (2004)

大脳皮質形成における神経細胞移動の分子機構 川内健史、星野幹雄 *神経研究の進歩* 第49巻・第1号 (2005)

2. 学会発表

Ptfla, a bHLH transcriptional gene, defines GABAergic neuronal fates in cerebellum Mikio Hoshino, Shoko Nakamura, Yoichi Nabeshima (in English) 2005年1月11日 群馬県草津温泉 ホテル ヴィレッジ JBS International Symposium in 2005 "New Frontier of Transcription Research"

Roles of Rac signaling pathway in neuronal migration. Mikio Hoshino, Masato Yoshizawa, Takeshi Kawauchi, Masaki Sone and Yo-ichi Nabeshima 15th Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience (Edinburgh, Scotland) 2004年8月4-7日

Dynamic switching of axonal transport for the *Drosophila* Hikaru genki and Amyloid precursor-like proteins among the phases of synaptogenesis Masaki Sone, Megumi Utsugi-Asada, Mikio Hoshino, Yo-ichi Nabeshima, 15th Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience (Edinburgh, Scotland) 2004年8月4-7日

P-Rex1, a Rac specific activator - its

expression during brain development and involvement in cell migration. Mikio Hoshino, Masato Yoshizawa, Masaki Sone, Takeshi Kawauchi, Yo-ichi Nabeshima Society for Neuroscience 34th Annual Meeting (San Diego, USA) 2004年10月23-27日

Dynamic switching of axonal transport for the *Drosophila* Hikaru genki and Amyloid precursor-like proteins among the phases of synaptogenesis. Masaki Sone, Megumi Utsugi-Asada, Mikio Hoshino, Yo-ichi Nabeshima Society for Neuroscience 34th Annual Meeting (San Diego, USA) 2004年10月23-27日

P-Rex1, a Rac specific activator - its expression during brain development and involvement in cell migration. Masato Yoshizawa, Takeshi Kawauchi, Masaki Sone, Yo-ichi Nabeshima 第27回日本神経科学大会 (大阪) 2004年9月21-23日

MAP1B の model リン酸化は、Cdk5/p35、Cdk5/p25、JNK により異なる制御を受ける 川内健史、地濱香央里、西村嘉晃、鍋島陽一、星野幹雄 第27回日本分子生物学会年会 (神戸) 2004年12月8-11日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

骨髄間質細胞から骨格筋細胞を分化誘導し増殖を制御する方法及び個体への導入法の開発

特許出願中 出願番号 2004-372656 出願日 2004年12月24日

出澤真理 (40%) 鍋島陽一 (40%) 星野幹雄 (20%)

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
分担研究報告書

骨髄間質細胞からの神経並びに筋細胞の選択的誘導とパーキンソン病・筋ジストロフィーへの自家移植治療法の開発

分担研究者 菅野 洋 横浜市市立大学大学院 助教授

研究要旨

骨髄間質細胞を遺伝子導入法を用いて選択的に神経細胞へ分化転換し、その細胞をパーキンソン病患者の脳内へ移植することにより、神経を再生させて、パーキンソン病を治療する方法の開発をパーキンソン病モデル動物を用いて検討した。

A. 研究目的

本研究は、多分化能を持つ組織幹細胞の一つで、臨床応用可能とされる自己骨髄細胞に対して、神経分化転換を引き起こす特定の遺伝子を導入することにより、神経細胞へ選択的に分化させたのち難治性疾患であるパーキンソン病患者の脳内へ移植してパーキンソン病において欠乏しているドーパミン産生神経細胞を補うことで、パーキンソン病を根本的に治療するために、そのための基礎的検討をパーキンソン病モデル動物を用いて行うことを目的とする。

B. 研究方法

1) 6-hydroxydopamine をラットの大脳に定位的に注入し、半側パーキンソンモデルを作成し、アポモルフィン投与により一定以上の回転数で回転するモデルを作成。

2) 骨髄間質細胞から Notch 遺伝子導入により選択的に神経へ分化させた細胞を 1) の方法で作成したパーキンソン病モデルラットの脳内へ移植し、1 週間毎に移植 12 週後までアポモルフィン誘導回転等を検討した。

3) 移植 12 週後にパーキンソン病モデルラットの脳を取り出して、病理組織学的に移植した骨髄間質細胞が神経へ分化しているか、パーキンソン病で欠乏するドーパミンを分泌しているか検討した。

(倫理面への配慮)

実験にあたっては、本学の動物実験センターの認定を得て、実験動物に苦痛を与えないように配慮した。

C. 研究結果

Notch 遺伝子を導入した骨髄間質細胞は、パーキンソン病モデルラットの脳内でドーパミンを分泌する神経

細胞へ分化した。行動学的評価では、脳内へ移植されたパーキンソン病モデルラットの症状は劇的に改善した。

D. 考察

Notch 遺伝子の骨髄間質細胞への導入は選択的な神経細胞への分化を引き起こし、神経細胞へ選択的に分化誘導した骨髄間質細胞移植がパーキンソン病の画期的な治療として将来的に有望であることが示唆された。

E. 結論

自己骨髄間質細胞を選択的に神経細胞へ誘導後の脳移植はパーキンソン病の新しい治療法になりうる。

F. 健康危険情報：無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 菅野 洋：遺伝子導入細胞を用いた神経再生治療、菊池晴彦監修、脳神経外科の最新医療、先端医療技術研究所、2004 年

2) Murakami K, Kanno H, Yamamoto I, Saito T: Lavendustin A enhances axon elongation in VHL-gene transferred neural stem cells, NeuroReport 15(4):611-614, 2004

2. 学会発表

菅野 洋、久保篤彦、味村俊郎、村田英俊、山本勇夫、前田和彦、山崎吉以、中野修一、杉本直己、出澤真理：遺伝子/機能性ペプチド導入による体性幹細胞の神経分化誘導とその神経再生医療への応用、第 63 回日本脳神経外学会総会シンポジウム(名古屋)2004 年 10 月

H. 知的財産権の出願状況
出願番号：特願 2004-148907
出願日：平成 16 年 5 月 19 日
発明者 菅野 洋
発明の名称 VHL ペプチド

幹細胞としての筋衛星細胞の単離と遺伝子発現解析

分担研究者 武田伸一

国立精神・神経センター神経研究所遺伝子疾患治療研究部 部長

研究要旨

1. *in vivo* から静止状態の筋前駆細胞（筋衛星細胞）を純化可能な抗体を作成した。
2. 静止期筋衛星細胞と活動期筋衛星細胞の遺伝子プロファイルを作成した。
3. 作成した遺伝子プロファイルをもとにして静止期筋衛星細胞特異的な遺伝子を RNA, 蛋白質レベルで確認した。

A. 研究目的

骨格筋は再生能に富んだ組織であり、その中心として働くのが筋衛星細胞である。1990年代後半に、筋衛星細胞を培養により増幅した筋芽細胞移植が、DMD患者に施されたが、良好な結果は得られなかった。その原因の一つとして、*in vivo* での筋衛星細胞の挙動に関する理解が不足していたことを挙げることができる。これまでの筋衛星細胞の研究はすべて培養筋芽細胞を用いた実験であり、*in vivo* の特に静止期の筋衛星細胞に関してはほとんど知識が集積されていない。たとえ成熟骨格筋の遺伝子欠損を補充しても、その前駆細胞である筋衛星細胞に欠損が残ると、長期的な治療法にはなり得ない。逆に、筋衛星細胞を完全に入れ替えることが可能であれば、より根本治療になると考えられる。そのためには筋衛星細胞がどのような機構で、静止期に維持されているかを理解することが必須である。そこで、静止期筋衛星細胞の単離法を確立し、その後遺伝子プロファイルを作成し、更に特異的遺伝子を同定することで、筋衛星細胞の維持機構を解明することを目的とした。

B. 研究方法

1. 静止期筋衛星細胞特異的モノクローナル抗体の樹立
マウス筋芽細胞株である C2C12 のサブクローン C2/4 細胞をラットに免疫し、フローサイトメータ、免疫組織化学染色によりスクリーニングを行った。
2. 静止期、活動期筋衛星細胞の単離
8-12 週齢の C57BL/6 マウスの前後肢筋より単核の細胞を調整し、静止期筋衛

星細胞を得た。この静止期筋衛星細胞を 4 日間培養したものを活動期筋衛星細胞とした。

3. 遺伝子発現解析

Affymetrix 社の MOE430A を用いて静止期、活動期筋衛星細胞の遺伝子発現プロファイルを作成した。解析は Silicon Genetic 社の Gene Spring 7.0 を用いた

C. 研究成果

1. 静止期筋衛星細胞の単離法の確立
樹立した新規モノクローナル抗体と FACS Vantage を用いることで、97% 以上の純度の静止期筋衛星細胞を単離する方法を確立することができた。この方法により、今までは困難であった静止期筋衛星細胞の分子的解析が可能となった。
2. 静止期筋衛星細胞の遺伝子発現プロファイルの作成
上記の方法で単離した静止期筋衛星細胞と、培養後の活動期筋衛星細胞から total RNA を採取し、遺伝子発現プロファイル作成し、比較した。その結果、予想に反して数多くの遺伝子が静止期筋衛星細胞でも発現していることが分かった。特に細胞接着、細胞外マトリックス、ホストの防御に関わる遺伝子が静止期筋衛星細胞に多く発現していた。
3. 静止期筋衛星細胞特異的遺伝子の同定
作成した遺伝子発現プロファイルから、特に興味深い遺伝子に関しては RT-PCR でその発現を確かめた。更に Notch signal のエフェクター分子である HeyL, Notch のように細胞表面に存在し、かつ

転写因子活性を持つと報告されている Odz4 の発現は蛋白質レベルでも確認した。遺伝子発現プロファイル同様、これらの蛋白質は活動期筋衛星細胞では発現が見られなかった。

D. 考察

静止期、活動期筋衛星細胞の遺伝子プロファイルの解析から、筋衛星細胞の活性化に伴い、ダイナミックな遺伝子発現変化を伴うことが分かった。このことから、筋衛星細胞の活性化は様々な因子により調節されていると予想される。また、今回同定した、静止期筋衛星細胞特異的な遺伝子は筋衛星細胞の静止期を維持するのに必要な遺伝子の候補であると考えられるが、どの機構に関与しているのかを明らかにすることが今後の課題である。

E. 結論

1. 静止期筋衛星細胞を単離する方法を確立した。
2. 静止期、活動期筋衛星細胞の遺伝子発現プロファイルを作成した。
3. 静止期筋衛星細胞には細胞接着、細胞マトリックス、ホストの防御に関わる遺伝子が活動期筋衛星細胞より多く発現していた。
4. HeyL、Odz4 の発現を静止期筋衛星細胞においてのみ蛋白質レベルでも検出した。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

I. 論文発表

< 英文 >

1. Imamura M, Mochizuki Y, Engvall E, Takeda S:
 ϵ -Sarcoglycan compensates for lack of α -sarcoglycan in a mouse model of limb girdle muscular dystrophy. *Hum Mol Genet.* 2005 Feb; [Equb ahead of print]
2. Yang D, Bierman J, Tarumi YS, Zhong YP, Rangwala R, Proctor TM, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S, Miner JH, Sherman LS, Gold BG, Patton BL:

Coordinate control of axon defasciculation and myelination by laminin-2 and -8.

J Cell Biol. 168(4): 655-66, 2005

3. Takahashi J, Itoh Y, Fujimori K, Imamura M, Wakayama Y, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S:
The utrophin promoter A drives high expression of the transgenic LacZ gene in liver, testis, colon, submandibular gland, and small intestine. *J Gene Medicine*, 7(2): 237-48, 2004
4. Yoshimura M, Sakamoto M, Ikemoto M, Mochizuki Y, Yuasa K, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S:
AAV vector-mediated micro-dystrophin expression in a relatively small percentage of mdx myofibers improved the mdx phenotype. *Mol Ther*, 10(5): 821-828, 2004
5. Hara H, Monsonogo A, Yuasa K, Adachi K, Xiao X, Takeda S, Takahashi K, Weiner HL, Tabira T:
Development of a safe oral Abeta vaccine using recombinant adeno-associated virus vector for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 6(5):483-8, 2004
6. Ojima K, Uezumi A, Miyoshi H, Masuda S, Morita Y, Fukase A, Hattori A, Nakauchi H, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S:
Mac-1low early myeloid cells in the bone marrow-derived SP fraction migrate into injured skeletal muscle and participate in muscle regeneration *Biochem Biophys Res Commu*, 2004 Sep 3; 321(4): 1050-61
7. Gawlik K, Miyagoe-Suzuki Y, Ekblom P, Takeda S, Durbeek M:
Laminin alpha 1 chain reduces muscular dystrophy in laminin alpha 2 chain deficient mice. *Hum Mol Genet.* 2004, 13(16): 1775-1784.
8. Fukada S, Higuchi S, Segawa M, Koda K, Yamamoto Y, Tsujikawa K, Kohama Y, Uezumi A, Imamura M,

- Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S, Yamamoto H:
Purification and cell-surface marker characterization of quiescent satellite cells from murine skeletal muscle by a novel monoclonal antibody.
Exp Cell Res. 2004 Jun 10; 296(2): 245-55.
9. Nishiyama A, Endo T, Takeda S, Imamura M:
Identification and characterization of ϵ -sarcoglycans in the central nervous system.
Mol Brain Res. 125(1-2): 1-12, 2004
10. Munehira Y, Ohnishi T, Kawamoto S, Furuya A, Shitara K, Imamura M, Yokota T, Takeda S, Amachi T, Matsuo M, Kioka N, Ueda K:
alpha I-syntrophin modulates turnover of ABCA1.
J Biol Chem. 279(15): 15091-5, 2004
- Keystone Symposia, Molecular Regulation of Stem Cells, Banff, Alberta, Canada, Feb 13, 2005
3. Yoshioka H, Shiga K, Takeda S, Imamura M:
In vitro analysis of assembly of the sarcoglycan complex containing ζ -sarcoglycan.
the American Society for Cell Biology, Washington DC, USA, Dec 7, 2004
4. Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S:
Muscle stem cells as a tool for cell therapy of muscular dystrophy
Molecular Therapy of Muscular Dystrophy /Part II, International Symposium Organized by Japanese Muscular Dystrophy Research Group, Tokyo, Nov 12, 2004
5. Takeda S:
The role of muscle stem cells in muscle regeneration.
Seminar at Hammer Smith Hospital, London, UK, Nov. 8, 2004
6. Takeda S:
Successful AAV vector-mediated gene transfer into canine skeletal muscle required suppression of excess immune responses.
The 12th Annual Congress of the European Society of Gene Therapy, Tampere, Finland, Nov 5, 2004
7. Takeda S:
Therapeutic approaches to dystrophin-deficient muscular dystrophy.
Seminar at Genethon, Evry, France, 7 Sep, 2004
8. Takeda S:
A novel sub-population of muscle Side Population (SP) cells and their roles in muscle regeneration.
Seminar at Pasteur Institute, Paris, France, Sep 6, 2004
9. Yoshida M, Ampong BN, Mochizuki Y, Imamura M, Takeda S:
Dysferlin may interact with dihydropyridine receptor.

<和文>

1. 武田伸一:
筋ジストロフィーモデル動物における遺伝子治療研究の現況と展望.
第45回日本神経学会総会シンポジウム、遺伝性筋ジストロフィーの根本的治療をめざして
臨床神経、44: 911-913, 2004

II. 学会発表

<国外>

1. Fukada S, Uezumi A, Segawa M, Yamamoto H, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S:
Molecular characterization of quiescent satellite cells and their application to cell therapy
Keystone Symposia, Molecular Regulation of Stem Cells, Banff, Alberta, Canada, Feb 13, 2005
2. Uezumi A, Fukada S, Masuda S, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S:
Identification of a novel subpopulation of SP cells during muscle regeneration.

- 9th International Congress of the World Muscle Society, Göteborg, Sweden, 2 Sep, 2004
10. Takeda S, Mochizuki Y, Uezumi A, Ojima K, Masuda S:
Contribution of bone marrow derived cells to denervated skeletal muscle. 9th International Congress of the World Muscle Society, Göteborg, Sweden, 2 Sep, 2004
 11. Takeda S:
Gene transfer in Duchenne muscular dystrophy.
Monaco Round Table Discussion - Micro-dystrophin from concept to clinical trials-, Monte Carlo, Monaco, 6.19, 2004
 12. Takeda S:
AAV vector and microdystrophin. Lecture at the 7th Summer School of Myology, Institut de Myologie, Paris, France, 6.17, 2004
 13. Takeda S, Ikemoto M, Yoshimura M, Sakamoto M, Mochizuki Y, Yuasa K, Yokota T, Miyagoe-Suzuki Y:
An AAV vector-mediated microdystrophin expression in relatively small percentage of dystrophin-deficient mdx myofibers still improved the mdx phenotype through compensatory hypertrophy.
7th Annual Meeting, The American Society of Gene Therapy, Minneapolis, USA, 6.4, 2004
 14. Yuasa K, Yoshimura M, Urasawa N, Sato K, Miyagoe-Suzuki Y, Howell MJ, Takeda S:
Successful AAV vector-mediated gene transfer into canine skeletal muscle required suppression of excess immune responses.
7th Annual Meeting, The American Society of Gene Therapy, Minneapolis, USA, 6.3, 2004
- <国内>
1. 深田総一郎、上住聡芳、瀬川雅司、増田 智、鈴木友子、山元 弘、武田伸一：
骨格筋特異的幹細胞（筋衛星細胞）の遺伝子発現解析。
第4回日本再生医療学会総会、大阪、3.1, 2005
 2. 鈴木直輝、望月靖史、上住聡芳、深田総一郎、増田 智、深瀬明子、鈴木友子、武田伸一：
骨髄キメラマウスを用いた後肢懸垂・再荷重モデルにおける筋肥大メカニズムの解析。
第4回日本再生医療学会総会、大阪、3.1, 2005
 3. 上住聡芳、尾嶋孝一、深田総一郎、増田智、鈴木友子、武田伸一：
骨格筋 Side Population (SP) cells の筋再生における機能。
第4回日本再生医療学会総会、大阪、3.1, 2005
 4. 武田伸一：
AAV ベクターを用いた筋ジストロフィーに対する遺伝子治療の pre-clinical study -筋ジストロフィーで認められた免疫応答の克服-。
ヒトゲノム・再生医療等研究事業研究成果発表会、東京、2.25, 2005
 5. 武田伸一：
骨格筋・幹細胞と筋再生の分子機構。
慶應大学医学部セミナー・日本横紋筋肉腫研究グループ (J R S G)、東京、2.14, 2005
 6. 武田伸一、石浦章一、鈴木友子：
内因性ユートロフィンの発現増強による筋ジストロフィーの画期的治療法の開発。
こころの健康科学（神経分野）研究成果発表会（研究者向け）、東京、2.9, 2005
 7. 武田伸一、鈴木友子、増田 智、深田宗一郎、鈴木直輝、望月靖史、上住聡芳：
微小重力による筋萎縮の分子メカニズム。
-メカノバイオロジーにおける分子細胞生物学的展開の最先端-、第27回日本分子生物学会年会、神戸市、12.10, 2004
 8. 二川 健、平坂勝也、久田記美子、後藤淳平、不老治治美、大西ゆう子、岸 恭一、小川貴之、鈴江直人、安

- 井夏生、石堂一巳、埜中征哉、武田伸一：
Unloadingによる筋・骨萎縮における
ユビキチン・システムの重要性ユビキ
チンリガーゼの結合蛋白質の解析を中
心に。
-メカノバイオロジーにおける分子細
胞生物学的展開の最先端-第27回日本
分子生物学会年会、神戸市、12.10,
2004
9. 武田伸一：
骨格筋幹細胞と筋再生。
東京大学大学院セミナー、11.19,
2004
10. 武田伸一：
筋ジストロフィーに対する生殖医療と
遺伝子治療。
埼玉県筋ジストロフィー協会創立40
執念記念大会関連シンポジウム「遺伝
子疾患（筋ジストロフィーなど）と生
殖医療」、9.18, 2004
11. 武田伸一：
骨格筋の幹細胞を巡る進歩。
東北大学医学部セミナー、宮城県仙台
市、9.17, 2004
12. 武田伸一：
将来の治療。
平成16年度神経・筋疾患政策医療ネ
ットワーク研修会、東京、9.16, 2004
13. Ikenoto M, Yoshimura M, Sakamoto M,
Mochizuki Y, Yuasa K, Yokota T,
Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S：
An AAV-vector-mediated micro-
dystrophin expression in relatively
small percentage of dystrophin-
deficient mdx myofibers still
improved the mdx phenotype.
日本遺伝子治療学会、東京、8.5,
2004
14. Yuasa K, Yoshimura M, Urasawa N,
Sato K, Miyagoe-Suzuki Y, Howell MJ,
Takeda S：
Successful AAV vector-mediated gene
transfer into canine skeletal muscle
required suppression of excess
immune responses.
日本遺伝子治療学会、東京、8.5,
2004
15. 上住聡芳、尾嶋孝一、増田智、深瀬
明子、鈴木友子、武田伸一：
骨格筋再生過程における side
population (SP) cells の解析。
第25回日本炎症・再生医学会、東京、
7.14, 2004
16. 望月靖史、尾嶋孝一、上住聡芳、増
田智、武田伸一：
骨格筋の脱神経病変に対する骨髄由来
細胞の関与
第25回日本炎症・再生医学会、東京、
7.13, 2004
17. 武田伸一：
筋ジストロフィーモデル動物における
遺伝子治療研究の現況と展望。
三菱ウエルファーマ 横浜 5.28,
2004
18. 武田伸一：
筋ジストロフィーモデル動物における
遺伝子治療研究の現況と展望。
第45回日本神経学会総会シンポジウ
ム 東京 5.14, 2004
19. 吉村まどか、池本 円、坂本美喜、
望月靖史、湯浅勝敏、辻 省次、武
田伸一：
アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクター
によるマイクロ・ジストロフィン遺伝
子の導入効果
第45回日本神経学会総会、東京、
5.14, 2004
20. 上住聡芳、尾嶋孝一、深田宗一郎、増田 智、
深瀬明子、鈴木友子、武田伸一：
骨格筋再生過程による Side
Population (SP) 細胞の解析
第2回幹細胞シンポジウム、4.26,
2004.
- H. 知的所有権の出願・登録状況
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

(代表者：出沢分)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Dezawa M, So KF	Regeneration of optic nerve	MD Binder, N Hirokawa, U Windhorst, Springer	Encyclopedic Reference of Neuroscience				in press
Ide C, Dezawa M, Matsumoto N, Itokazu Y	Regeneration (synopsis)	MD Binder, N Hirokawa, U Windhorst, Springer	Encyclopedic Reference of Neuroscience				in press
Dezawa M	Schwann cell interactions with the axon and with CNS glial cells during optic nerve regeneration, in Leif Hertz: Non-Neuronal Cells in the Nervous System: Function and Dysfunction	Leif Hertz	Advances in Molecular Cell Biology. Vol 31	Elsevier		2004	329-345

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Watanabe Y, Matsumoto N, Dezawa M, Itokazu Y, Yoshihara T, Ide C	Conditioned medium of the primary culture of rat choroid plexus epithelial (modified ependymal) cells enhances neurite outgrowth and survival of hippocampal neurons	Neurosci Lett			in press
Xu Y, Tamamaki N, Noda T, Kimura K, Itokazu Y, Matsumoto N, Dezawa M, Ide C	Neurogenesis in the ependymal layer of the adult rat 3 rd ventricle	Exp Neurol	192(2)	251-264	2005
Kanada T, Koda M, Dezawa M, Yoshinaga K, Hashimoto M, Koshizuka S, Nishio Y, Moriya H, Yamazaki M	Transplantation of bone marrow stromal cell-derived Schwann cells promotes axonal regeneration and functional recovery after complete transaction of adult rat spinal cord	J Neuropathol Exp Neurol	64(1)	37-45	2005
Ishikawa H, Takano M, Matsumoto N, Sawada H, Ide C, Miura O, Dezawa M	Effect of GDNF gene transfer into axotomized retinal ganglion cells using in vivo electroporation with a contact lens-type electrode	Gene Ther	12(4)	289-298	2005
Miura T, Dezawa M, Kanno H, Sawada H, Yamamoto I	Peripheral nerve regeneration by transplantation of bone marrow stromal cell-derived Schwann cells in adult rats	J Neurosurg	101(5)	806-812	2004