

Fukuyama N, Tanaka E, Tabata Y, Fujikura H, Hagihara M, Sakamoto H, Ando K, Nakazawa H, Mori H.

*Basic Res Cardiol*, 2006.

“Search for appropriate experimental methods to create stable hind-limb ischemia in mouse.”

Goto T, Fukuyama N, Aki A, Kanabuchi K, Kimura K, Taira H, Tanaka E, Wakana N, Mori H, Inoue H.

*Tokai Journal*, 31: 128-132, 2006.

“Erythropoietin enhances neovascularization of ischemic myocardium and improves left ventricular dysfunction after myocardial infarction in dogs.”

Hirata A, Minamino T, Asanuma H, Fujita M, Wakeno M, Myoishi M, Tsukamoto O, Okada K, Koyama H, Komamura K, Takashima S, Shinozaki Y, Mori H, Shiraga M, Kitakaze M, Hori M.

*J Am Coll Cardiol*, 48(1): 176-184, 2006.

“Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of two vascular apoptosis-inducing proteins (VAPs) from *Crotalus atrox* venom.”

Igarashi T, Oishi Y, Araki S, Mori H, Takeda S.

*Acta Crystallograph Sect F Struct Biol Cryst Commun*, 62(Pt 7): 688-691, 2006.

“Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial norepinephrine release.”

Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Ariumi H, Mori H, Sunagawa K, Sugimachi M.

*Life Sci*, 78(8): 882-887, 2006.

“Effects of Ca<sup>2+</sup> channel antagonists on nerve stimulation-induced and ischemia-induced myocardial interstitial acetylcholine release in cats.”

Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Uemura K, Kamiya A, Shishido T, Mori H, Sugimachi M.

*Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 291(5): H2187-2191, 2006.

“Biphasic of inducible nitric oxide synthase in a hind limb ischemia model” .

Kimura K, Goto T, Yagi K, Furuya H, Jujo S, Itoh J, Sawamura S, Koide S, Mori H, Fukuyama N.

*J. Clin. Biochem. Nutr.*, 38(2): 1-8, 2006.

“Effect of sustained limb ischemia on norepinephrine release from skeletal muscle sympathetic nerve endings.”

Kuroko Y, Tokunaga N, Yamazaki T, Akiyama T, Ishino K, Sano S, Mori H.  
*Neurochem Int*, 2006.

“Endophilin BAR domain drives membrane curvature by two newly identified structure-based mechanisms.”

Masuda M, Takeda S, Sone M, Ohki T, Mori H, Kamioka Y, Mochizuki N.  
*Embo J*: 1-9, 2006.

“Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction.”

Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, Yanagawa B, Tanaka K, Hao H, Ishino K, Ishida H, Shimizu T, Kangawa K, Sano S, Okano T, Kitamura S, Mori H.  
*Nat Med*, 12(4): 459-465, 2006.

“Beraprost sodium enhances neovascularization in ischemic myocardium by mobilizing bone marrow cells in rats.”

Miyahara Y, Ohnishi S, Obata H, Ishino K, Sano S, Mori H, Kangawa K, Kitamura S, Nagaya N.  
*Biochem Biophys Res Commun*, 349(4): 1242-1249, 2006.

“X-ray Spectra from Weakly Ionized Linear Copper Plasma.”

Sato E, Hayashi Y, Germer R, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S, Takayama K, Onagawa J.  
*Japanese Journal of Applied Physics*, 45(6A): 5301-5306, 2006.

“K-edge angiography utilizing a tungsten plasma x-ray generator in conjunction with gadolinium-based contrast media.”

Sato E, Hayashi Y, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S, Takayama K, Ido H.  
*Rad. Phys. Chem.*, 75: 1841-1849, 2006.

“Preliminary study for producing higher harmonic hard x-rays from weakly ionized nickel plasma.”

Sato E, Hayasi Y, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S, Takayama K, Onagawa J, Ido H.  
*Rad. Phys. Chem.*, 75: 1812-1818, 2006.

“Tunable narrow-photon-energy x-ray generator utilizing a tungsten-target tube.”

Sato E, Sugiyama H, Ando M, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Takayama K, Onagawa J, Ido H.  
*Rad. Phys. Chem.*, 75: 2008-2013, 2006.

“Demonstration of enhanced K-edge angiography utilizing a samarium x-ray generator.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*Proc. of World Congress on Med. Phys. And Biomedical Engineering 2006*, 1250-1253, Souel, 2006.

“Enhanced magnification angiography utilizing a 100- $\mu$ m-focus tungsten tube in conjunction with gadolinium-based media.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*Proc. of World Congress on Med. Phys. And Biomedical Engineering 2006*, 1427-1430, Souel, 2006.

“Enhanced real-time magnification angiography utilizing a 100- $\mu$ m-focus x-ray generator in conjunction with an image intensifier.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*SPIE*, 6319(63190J): 1-7, 2006.

“Real time magnification radiography utilizing a 100- $\mu$ m-focus x-ray generator.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*Proc. of World Congress on Med. Phys. And Biomedical Engineering 2006*, 1415-1418, Souel, 2006.

“Super-characteristic x-ray generator utilizing a pipe and rod target.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*SPIE*, 6319(63190Q): 1-6, 2006.

“Characteristic X-ray Generator Utilizing Angle Dependence of Bremsstrahlung X-ray Distribution.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S, Takayama K, Onagawa J.  
*Japanese Journal of Applied Physics*, 45(No. 4A): 2845-2849, 2006.

“Real time magnification radiography utilizing a 100- $\mu$ m-focus x-ray generator.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*Proc. of World Congress on Med. Phys. And Biomedical Engineering 2006*, 1415-1418, Souel, 2006.

“Super-characteristic x-ray generator utilizing a pipe and rod target.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*SPIE*, 6319(63190Q): 1-6, 2006.

“Characteristic X-ray Generator Utilizing Angle Dependence of Bremsstrahlung X-ray Distribution.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S, Takayama K, Onagawa J.  
*Japanese Journal of Applied Physics*, 45(No. 4A): 2845-2849, 2006.

“Real time magnification radiography utilizing a 100- $\mu$ m-focus x-ray generator.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*Proc. of World Congress on Med. Phys. And Biomedical Engineering 2006*, 1415-1418, Souel, 2006.

“Super-characteristic x-ray generator utilizing a pipe and rod target.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*SPIE*, 6319(63190Q): 1-6, 2006.

“Characteristic X-ray Generator Utilizing Angle Dependence of Bremsstrahlung X-ray Distribution.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Sato S, Takayama K, Onagawa J.

*Japanese Journal of Applied Physics*, 45(No. 4A): 2845-2849, 2006.

“Cardioprotective role of endogenous hydrogen peroxide during ischemia-reperfusion injury in canine coronary microcirculation in vivo.”

Yada T, Shimokawa H, Hiramatsu O, Haruna Y, Morita Y, Kashihara N, Shinozaki Y, Mori H, Goto M, Ogasawara Y, Kajiya F.

*Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 291(3): H1138-1146, 2006.

“Kurozu moromimatsu inhibits tumor growth of Lovo cells in a mouse model in vivo.”

Fukuyama N, Jujo S, Ito I, Shizuma T, Myojin K, Ishiwata K, Nagano M, Nakazawa H, Mori H.

*Nutrition*, 2006, in press.

“High-sensitive radiography system utilizing a pulse x-ray generator and a night-vision.”

Sagae M, Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T.

*SPIE*, 2006, in press.

“Enhanced K-edge angiography utilizing a super-fluorescent x-ray generator with a gadolinium tube.”

Sato E, Germer R, Obara H, Tanaka E, Mori H.

*SPIE*, 2006, in press.

“Characteristics pulse x-ray generator utilizing a hot-cathode triode.”

Sato E, Germer R, Obara H, Tanaka E, Mori H, Kawai T.

*SPIE*, 2006, in press.

“Characteristics of a super-fluorescent x-ray generator.”

Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*SPIE*, 6319, 2006, in press.

“X-ray spectra from a weakly ionized linear molybdenum plasma.”  
Obara H, Sato E, Germer R, Tanaka E, Mori H, Kawai T.  
*SPIE*, 2006, in press.

“Demonstration of enhanced K-edge angiography using a samarium target x-ray generator.”  
Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*SPIE*, 6319, 2006, in press.

“Real-time magnification radiography utilizing a 100  $\mu$ m-focus x-ray generator in conjunction with an image intensifier.”  
Sato E, Tanaka E, Mori H, Kawai T, Inoue T, Ogawa A, Izumisawa M, Takahashi K, Sato S, Ichimaru T, Takayama K.  
*SPIE*, 6319, 2006, in press.

“Visualization of intracerebral arteries by synchrotron radiation microangiography.”  
Myojin K, Taguchi A, Umetani K, Fukushima K, Nishiura N, Matsuyama T, Kimura H, Stern DM, Imai Y, Mori H.  
*American journal of neuroradiology (AJNR)*, 2007.

『ナノメディシン・プロジェクトー厚生労働省指定型ナノメディシン・プロジェクトを中心にしてー』  
菅 弘之, 盛 英三, 馬場 嘉信, 杉町 勝  
東京: 先端医学社; 2006.

『特発性心筋症の原因解明と治療法開発に向けた構造生物学的アプローチ』  
盛 英三, 武田 壮一, 五十嵐 智子,  
柴田洋之の医学のあゆみ, 217(8): 819-824, 2006.

『疾患関連蛋白のサブナノ構造イメージングと分子標的薬剤の開発; ナノイメージング構造』

盛 英三, 武田 壮一, 若林 繁夫, 井上 裕康, ユーセフベンアマー,  
松原 孝宜, 五十嵐 智子, 柴田 洋之  
分子心血管病, 先端医学社, 東京, 2006.

『特集 ナノテクノロジーと医療 ナノレベルイメージングによる分子構造  
と機能の解析』

盛 英三, 望月 直樹, 武田 壮一, 井上 裕康, 中村 俊, 土屋 利江  
日本臨床, 64: 358-364, 2006.

## 2. 学会発表

第 70 回日本循環器学会・学術集会, 415

“Heavy Ion Radiation Upregulates Connexin43 and Ameliorates the  
Substrates for VT/VF in Rabbit Hearts after Myocardial Infarction.”

Amino M, Yoshioka K, Matsuzaki A, Tanabe T, Mori H, Tanaka E, Furusawa Y,  
Yamazaki M, Nakagawa H, Honjou H, Lee J-k, Yasui K, Kamiya K, Kodama I.  
名古屋, 2006. 3.

第 70 回日本循環器学会・学術集会, 279

“Adipose Tissue-derived Endothelial Like Cells for Treatment of Pulmonary  
Hypertension in Rats.”

Kataoka M, Nagaya N, Tanaka K, Miyahara Y, Mori H.  
名古屋, 2006. 3.

第 70 回日本循環器学会・学術集会, 52

“Transplantation of Adipose Tissue-derived Endothelial Like Cells  
Improves Cardiac Function in Rats with Acute Myocardial Infarction through  
Angiogenesis and Myogenesis.”

Kataoka M, Nagaya N, Tanaka K, Miyahara Y, Mori H.  
名古屋, 2006. 3.

第 70 回日本循環器学会・学術集会, 315

“Therapeutic Potency of Intramyocardial Sustained Delivery of  
Insulin-like Growth Factor-1 for Myocardial Infarction.”

Miyahara Y, Nagaya N, Mori H.  
名古屋, 2006. 3.

第 70 回日本循環器学会・学術集会, 408

“Insulin-like Growth Factor-1 Enhances Therapeutic Potency of Mesenchymal Stem Cell Transplantation for Myocardial Infarction.”

Miyahara Y, Nagaya N, Mori H.

名古屋, 2006. 3.

第 70 回日本循環器学会・学術集会, 630-631

“Long-term Results of Autologous Transplantation of Bone Marrow Mononuclear Cells for Patients with Thromboangiitis Obliterans.”

Miyamoto K, Takeshita S, Kasai S, Akutsu K, Hayashi T, Chiku M, Nishigami K, Mori H, Nakatani T, Nonogi H, Tomoike H.

名古屋, 2006. 3.

第 83 回日本生理学会大会, S134

“Long-term monitoring of pulmonary arterial pressure in conscious, unrestrained mice.”

Schwenke DO, Pearson JT, Mori H, Shirai M.

群馬, 2006. 3.

第 70 回日本循環器学会・学術集会, 52

“Scavenging Reactive Oxygen Species by Edaravone Preserves Coronary Microvascular Endothelial Function Myocardial eNOS Expression on Ischemia/Reperfusion Injury In Vivo Beating Canine Heart.”

Sukmawan R, Yada T, Toyota E, Kume T, Mori H, Ogasawara Y, Yoshida K.

名古屋, 2006. 3.

第 70 回日本循環器学会・学術集会, 558

“Mesenchymal Stem Cells Not Only Regenerate Functional Cardiomyocytes but Also Have Paracrine Effects on Resident Myocytes in the Infarcted Myocardium.”

Tanaka K, Mori H, Nagaya N.

名古屋, 2006. 3.

第 70 回日本循環器学会・学術集会, 201

“Crucial Role of Hydrogen Peroxide as an Endogenous EDHF during Pacing-Induced Metabolic Dilatation in Canine Coronary Microvessels in Vivo.”

Yada T, Shimokawa H, Hiramatsu O, Shinozaki Y, Mori H, Goto M,



Ogasawara Y, Kajiya F.  
名古屋, 2006. 3.

第70回日本循環器学会・学術集会, 472

“Cardioprotective Role of Hydrogen Peroxide as an Endogenous EDHF during Ischemia-reperfusion Injury in Canine Coronary Microvessels in Vivo.”  
Yada T, Shimokawa H, Hiramatsu O, Shinozaki Y, Mori H, Goto M,  
Ogasawara Y, Kajiya F.  
名古屋, 2006. 3.

第4回ナノテクノロジー総合シンポジウム

“Expression and purification of proteins related to arachidonate cascade for development of novel drugs.”  
松原 孝宜, 金 相佑, 盛 英三, 井上 裕康  
東京, 2006. 2.

2nd Annual Meeting of the American Academy of Nanomedicine

“Structural Biological Approach to Fundamental Protein in Human Diseases Explores Nanophysiology and Nanomedicine.”  
Mori H.  
Washington DC, 2006. 9.

Scientific Sessions 2006

“Antiarrhythmic Cx43 up-regulation by radiation in rabbit.”  
Amino M, Yoshioka K, Matsuzaki A, Tanabe T, Tanaka E, Mori H, Furusawa Y,  
Zareba W, Honjo H, Yamazaki M, Nakagawa H, Yasui K, Kodama I.  
Illinois (Chicago), 2006. 11.

Scientific sessions 2006

“Single administration of novel sustained-release prostacyclin analogue attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats.”  
Obata H, Sakai Y, Ohnishi S, Takeshita S, Mori H, Kodama M, Aizawa Y,  
Nagaya N.  
Illinois (Chicago), 2006. 11.

Scientific sessions 2006

“Edaravone preserves coronary microvascular nitric oxide availability and

myocardial eNOS on ischemia/reperfusion injury in canine heart.”

Sukmawan R, Yada T, Toyota E, Neishi Y, Kume T, Haruna Y, Kashihara N, Mori H, Shinozaki Y, Ogasawara Y, Okura H, Yoshida K.  
Illinois (Chicago), 2006.11.

Scientific sessions 2006

“Crucial role of hydrogen peroxide as an endogenous endothelium-derived hyperpolarizing factor during pacing-induced metabolic dilatation in canine coronary microvessels in vivo.”

Yada T, Shimokawa H, Hiramatsu O, Shinozaki Y, Mori H, Goto M, Ogasawara Y, Kajiya F.  
Illinois (Chicago), 2006.11.

## 飯田 秀博

### 1. 論文発表

“System design and development of a pinhole SPECT system for quantitative functional imaging of small animals.”

Aoi T, Zeniya T, Watabe H, Deloar HM, Matsuda T, Iida H.  
*Ann Nucl Med*, 20(3):245-251, 2006

“Gene transfer of hepatocyte growth factor gene improves learning and memory in the chronic stage of cerebral infarction.”

Shimamura M, Sato N, Waguri S, Uchiyama Y, Hayashi T, Iida H, Nakamura T, Ogihara T, Kaneda Y, Morishita R.  
*Hypertension* 47:742-751, 2006

“Comparison of multi-ray and point-spread function based resolution recovery methods in pinhole SPECT reconstruction.”

Sohlberg A, Watabe H, Zeniya T, Iida H.  
*Nucl Med Commun* 27 (10):pp. 823-827., 2006

### 2. 学会発表

“Performance evaluation of a new image acquisition strategy in pinhole SPECT using Monte Carlo simulation.”

Kubo A, Zeniya T, Watabe H, Inomata T, Sohlberg A, Iida H, Minato K.  
*The 53rd Annual Meeting of the Society of Nuclear*,  
San Diego, America, 2006 3-7 Jun

“Absolute Quantitation of Regional Myocardial Blood Flow in Conscious Rats Using a Dedicated Dynamic Pinhole SPECT Camera.”

Iida H, Zeniya T, Inomata T, Watabe H, Teramoto N, Nakazawa M, Yamamichi Y.

*The 53rd Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine*, San Diego, America., 2006 3-7 Jun

『コンパクトガンマカメラを用いた小動物用ピンホール SPECT システムの開発』

猪股 亨, Sohlberg A, 銭谷 勉, 渡部 浩司, 寺本 昇, 岳野 猛, 飯田 秀博.

日本分子イメージング学会設立総会, 京都, 2006 23-24 May

“Development of dynamic pinhole SPECT system for absolute quantitation of regional myocardial blood flow in conscious small animals: first study on rats.”

Zeniya T, Inomata T, Watabe H, Teramoto N, Ose T, Sohlberg A, Nakazawa M, Yamamichi Y, Iida H.

*9th Congress of World Federation of Nuclear Medicine and Biology*, Seoul, Korea., 2006 22-27 Oct

“Effect of truncation in quantitative cardiac imaging with small field-of-view pinhole SPECT.”

Zeniya T, Watabe H, Sohlberg A, Inomata T, Kudo H, Iida H.

*2006 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference*, San Diego., 2006 29 Oct - 04 Nov

『小動物用ピンホール SPECT システムの開発』

猪股 亨, ソルベルグ アンティ, 合瀬 恭幸, 銭谷 勉, 渡部 浩司, 寺本 昇, 岳野猛, 飯田 秀博.

第 46 回 日本核医学会学術総会,

『小動物イメージングの最近の動向』

渡部 浩司.

第 46 回 日本核医学会学術総会, 鹿児島県民交流センター, 2006 9-11 Nov

『モンテカルロシミュレーションコード GATE を用いたピンホール SPECT カメラ

の最適化』

渡部 浩司, 銭谷 勉, 宍戸 博紀, 飯田 秀博.

第46回日本核医学会学術総会, 鹿児島県民交流センター, 2006 09-11Nov

H. 知的財産権の出願・登録状況

田口 明彦

特になし。

盛 英三

1. 特許取得

国際特許出願 PCT/JP00/07882 : 核酸含有複合体

特願平 11-187091 : X線診断システム

特願 2005-19802 : Mono-layered mesenchymal stem cells

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

飯田 秀博

特になし。

分担研究報告書

再生微小血管網に対する神経幹細胞移植

分担研究者

国立循環器病センター研究所 循環動態機能部 脳循環研究室 室長  
田口 明彦

大阪大学大学院 医学研究科 講師  
北川 一夫

大阪大学大学院 医学研究科 助手  
田中 秀和

研究要旨

我々は生理的な脳神経組織の再生において、神経細胞の移動や分化、成熟は血管新生と平行してプログラムされていることに着目し、血管形成と脳組織再生に焦点を当てて研究を行い、中枢神経障害後の血管再生が内因性神経幹細胞の生着および成熟に必須であることを示してきたが、本研究においては中枢神経障害後の単なる神経幹細胞移植では移植細胞はほとんど生着しないものの、障害周囲に血管新生網を構築しその部位に神経幹細胞を局所移植することにより移植神経幹細胞が生着することを明らかにした。移植神経幹細胞が脳神経機能の回復に貢献するためには、さらにその成熟や機能が必要不可欠であるが、来年度以降も、移植神経幹細胞の成熟や機能および脳神経機能改善効果と血管再生に関する検討を行い、中枢神経障害患者に対する治療法の確立に向けた知見の獲得を目指す。

A. 研究目的

我々は成体 Song Bird 等における脳神経組織の再生において、神経細胞の移動や分化、成熟は血管新生と平行してプログラムされていることに着目し、血管形成と脳組織再生に焦点を当てて研究を行ってきた。その結果、中枢神経障害後の血管再生が内因性神経幹細胞の移動を促進するだけでなく、その生着および成熟に必須であることを明らかにしてきたが、本研究では脳障害後の再生微小血管網への神経幹細胞移植を行い、その生着や成熟に関する知見の収集を行った。

## B. 研究方法

### ①脳梗塞マウスと再生微小血管網の作成

SCID マウスを用い、我々が開発した再現性の非常に高い脳梗塞モデルを作成した。脳梗塞巣周囲における血管再生を促進するため、脳梗塞作成後にヒト臍帯血由来 CD34 陽性細胞など血管血球系幹細胞の静脈内投与を行った。

### ②神経幹細胞の作成

妊娠 18 日目のマウス胎児より脳組織を採取し、Neurosphere 法により神経幹細胞を作成した。

### ③神経幹細胞の投与

神経幹細胞の①血管内投与、および②バラバラに単離した神経幹細胞③Neurosphere 塊の脳梗塞周囲における局所移植を行った。

### ④移植神経幹細胞生着の検討

抗 Nestin、Musashi、PSA-NCAM、MAP2、NeuN 抗体などを用いて移植部位における神経幹細胞の生着に関する検討を行った。

### ⑤神経機能向上に関する検討

Open Field Test およびロタロッドを用いて移植後の脳神経機能に関する検討を行った。

## C. 研究結果

①胎児由来神経幹細胞の血管内投与においては、脳梗塞周囲巣における移植神経幹細胞の生着や内因性神経再生の促進は観察されず、また神経機能の有意な向上も認められなかった。

②バラバラに単離した神経幹細胞の局所移植においても、移植 14 日目の時点で移植神経幹細胞はほとんど消失していた。また神経機能の有意な向上も認められなかった。

③Neurosphere 塊の脳梗塞周囲における局所移植に関しては、血管再生を促進していないコントロール群においては、わずかに少数の移植神経幹細胞の残存を認めるのみで移植神経幹細胞はほぼ消失していた。それに対し、血管血球系幹細胞の静脈内投与を行い微小血管網の再構築を行った群においては、移植 14 日目においても大量の移植神経幹細胞が移植部位から脳損傷部位に生着することを発見した。これらの細胞群はほとんど未熟な神経系細胞を示唆する PSA-NCAM 抗原陽性であるが、損傷部位に遊走が観察された一部の細胞には成熟した神経細胞を示唆する NeuN 抗原陽性細胞も観察された。これらの移植神経幹細胞の慢性期における生着や分化、新生血管との関連および神経機能向上効果に関しては、現在検討中である。

#### D. 考察

今年度の研究では中枢神経障害後の単なる神経幹細胞移植では移植細胞はほとんど生着しないものの、血管新生網を構築しその部位に移植することにより移植神経幹細胞が生着することを明らかにすることができた。これらの知見はSong Bird等で観察される生理的な神経再生過程と共通しており、また米国で行われた、脳梗塞患者に対する胎生ブタ脳由来神経幹細胞移植やヒト腫瘍細胞由来神経細胞移植治療に関する臨床治験で十分な治療効果が認められなかった理由のひとつでもあると考えている。

#### E. 結論

移植神経幹細胞が脳神経機能の回復に貢献するためには、さらにその成熟や機能が必要不可欠であり来年度は、①神経幹細胞移植に適した血管新生網の開発を継続すると共に、②移植神経幹細胞の成熟や機能および脳神経機能改善効果に関する検討、を中心に研究を行い、中枢神経障害患者に対する治療法の確立に向けた知見の獲得を目指す。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 田口 明彦

##### 1. 論文発表

『脳卒中に対する再生医療的技術を用いた治療法の開発に関する研究』

田口 明彦, 松山 知弘

*脳卒中* 2006;28(3);433-436

“Quantifying CD34<sup>+</sup> Cells in Peripheral Blood of the Patients With Cardiovascular Disease.”

Kikuchi-Taura A, Soma T, Matsuyama T, Stern D, Taguchi A.

*Texas Heart Institute Journal* 2006; 33: 427-429

“Visualization of intracerebral arteries by synchrotron radiation microangiography.”

Myojin K, Taguchi A, Umetani K, Fukushima K, Nishiura N, Matsuyama T, Kimura H, Stern D, Imai Y, Mori H.

*American Journal of Neuroradiology* in press.

“Neuroprotective Effect of Bone Marrow-Derived Mononuclear Cells Promoting Functional Recovery from Spinal Cord Injury.”

Yosihara T, Ohta M, Itokazu Y, Matsumoto N, Dezawa M, Suzuki Y, Taguchi A, Watanabe Y, Adachi Y, Ikehara S, Sugimoto H, Ide C.

*J. of Neurotrauma* in press

## 2. 学会発表

International Stroke Conference 2007

“Enormous Increase in Circulating CD34-positive Cells in Adult Patients with Moyamoya Collateral Vessels.”

Yoshihara T, Taguchi A, Matsuyama T, Shimizu Y, Naritomi H.

2007.02.07 San Francisco(U. S. A.)

### 第32回脳卒中学会総会

『脳梗塞後の骨髄単核球移植による脳微小血管網保護を介した神経機能回復』

田口 明彦, 松山 知弘, 成富 博章

福岡, 2007. 3. 23

### 第6回日本再生医療学会総会

『微小血管撮像装置を用いた脳微小血管網再生に関する検討』

明神 和紀, 田口 明彦, 盛 英三

横浜, 2007. 3. 12

### 第32回脳卒中学会総会

『脳梗塞瘢痕部由来神経幹細胞の発見』

中込 隆之, 斎野 織恵, 藤川 昌敏, 松山 知弘, 芳川 浩男, 田口 明彦

福岡, 2007. 3. 23

### 第32回脳卒中学会総会

『末梢血中 CD34 陽性細胞が高値を示す脳主幹動脈高度狭窄および閉塞例』

吉原 智之, 田口 明彦, 松山 知弘, 清水 葉子, 杉本 壽, 成富 博章

福岡, 2007. 3. 23

### 第18回日本脳循環代謝学会総会

『マウス脳梗塞巣由来神経幹細胞の単離』

斎野 織恵, 中込 隆之, 藤川 昌敏, 田口 明彦, 稲垣 忍, 松山 知弘

東京, 2006. 11. 10-11.



3. その他(シンポジウム・招待講演)  
東北大学“中枢神経系の再生医療最前線”講演会  
『脳血管障害に対する普遍的な再生医療の確立』  
仙台, 2006. 7. 20

東牟婁郡医師会講演会  
『脳血管障害に対する普遍的な治療法の確立』  
和歌山, 2006. 10. 14

北海道大学工学部第2回生物機能高分子セミナー  
『脳血管障害と再生医療』  
札幌, 2006. 12. 19

#### 田中 秀和

1. 論文発表  
なし。

2. 学会発表  
日本薬理学会

“Cadherin activity is required for activity-induced spine remodeling.”

(神経活動によるシナプスのスパイン形態変化と接着分子カドヘリン)

岡村 航, 田中 秀和, 三木 直正

横浜, 2006年3月8-10日

#### 北川 一夫

1. 論文発表

“Bcl2 Enhances Survival of Newborn Neurons in the Normal and Ischemic Hippocampus.”

Sakaki T, Kitagawa K, Yagita Y, Sugiura S, Omura-Matruoka E, Tanaka S, Matsushita K, Okano H, Tsujimoto Y, Hori M.

*J Neurosci Res*, 84:1187-1196, 2006.

『虚血耐性現象—脳虚血耐性現象はどこまでわかったか—。』  
*脳循環代謝* 2006、18:78-84.

『脳卒中と血圧管理 -LIFE, ALLHAT, VALUR, SCOPE, PROGRESS, ACCESS-。』  
ファーマナビゲーター 脳卒中編、 pp390-394, 2006  
編集 井林雪郎(メディカルレビュー社)

## 2. 学会発表

『心・脳血管疾患と炎症－最新の知見「脳卒中抑制とスタチンの脂質低下療法」』  
第70回日本循環器学会総会・学術集会、ファイアーサイドセミナー21、  
名古屋, 2006. 3. 25.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

分担研究報告書

脳障害患者における脳神経機能障害の進行と血管再生能に関する検討

分担研究者

兵庫医科大学 医学部 教授  
松山 知弘

国立循環器病センター 脳血管内科 部長  
成富 博章

国立循環器病センター研究所 循環動態機能部 脳循環研究室 室長  
田口 明彦

研究要旨

脳神経機能の維持や障害後の機能回復には、Blood Brain Barrier を中心とした脳微小循環の維持および修復が非常に重要な役割を果たしてと考えられているが、本研究では陳旧性脳梗塞患者など脳循環障害患者における認知機能の経時的変化と血管再生能の一つの指標である末梢血中 CD34 陽性細胞数との関連を検討した。その結果、末梢血中血管血球系幹細胞の減少が脳認知機能の経時的な悪化に関連していることが明らかになり、それらの成果は慢性期脳梗塞患者群に対する血管血球系幹細胞移植による治療法の可能性を示すとともに、脳血管の維持や再生機転と脳神経機能の維持、向上が密接に関連していることを示していると考えている。

A. 研究目的

我々は動物モデルを用いた検討において、脳障害後の血管新生が内因神経幹細胞の生着、成熟や脳神経機能回復に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきたが、本研究では陳旧性脳梗塞患者など脳循環障害患者における認知機能の経時的低下と血管再生能の一つの指標である末梢血中 CD34 陽性細胞数の減少との関連を検討することにより、ヒトにおける脳微小血管の維持や再生能力と脳神経機能との関連を明らかにすることを目的としている。

B. 研究方法

①対象患者群

慢性期患者群：虚血性脳血管障害や虚血性心疾患などの循環器系虚血性疾患発症後 30 日以上経過した陳旧性脳梗塞患者および対照群としてアルツハイマー型認知症患者。女性においては閉経後の患者のみを対象とし、また感染症など末梢血中の血球成分に、大きな影響を与える可能性のある疾患を有する患者も除外した。

## ②末梢血中幹細胞の解析

CD34 陽性細胞の末梢血中絶対数の測定：エントリー時において各患者より 1ml のヘパリン加採血を行い、内部標準ビーズを用いて、International Society of Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE) のガイドラインに準拠した CD34 陽性細胞の絶対数測定を行った。

## ③脳障害による機能障害の評価

Barthel Index、modified Rankin Scale、NIHSS、MMSE、CDR、DSM-III-R による評価をエントリー時およびエントリー 12 ヶ月後に行った。

(倫理的配慮) 本研究は患者由来のサンプルを用いた臨床研究であるため、国立循環器病センターおよび兵庫医科大学倫理委員会にて承認後、脳血管障害患者における末梢血幹細胞と脳虚血病態の関連の検討についての検討を行った。また、本研究への脳血管障害患者のエントリーは十分なインフォームドコンセントに基づいた本人の意思で本研究に参加して頂いた。

## C. 研究結果

本研究には合計 48 名のエントリーを行った(慢性期脳梗塞患者 42 名、コントロールとしてアルツハイマー型認知症患者 6 名)。慢性期脳梗塞患者群に関しては末梢血中 CD34 陽性細胞数により Low、Medium および High の 3 群に分類し、アルツハイマー型認知症患者とともに 1 年後の神経機能に関する再評価を行った。その結果、末梢血中 CD34 陽性細胞数が High に分類された患者群ではまったく CDR の経時的低下が認められなかったものの、Low および Medium の群に分類された患者において、一年間で認知機能の有意な悪化が認められた。また、アルツハイマー型認知症患者では末梢血中 CD34 陽性細胞数との関連はなく経時的認知機能の低下を認めた。

## D. 考察

我々は既に①MRI 上観察される虚血性病変と末梢血中幹細胞の関連について、血管内皮前駆細胞系の幹細胞を多く含む CD34 抗原陽性細胞数、CD133 抗原陽性細胞数の減少が、脳梗塞巣の増加と有意に関連していること、および②PET による画像評価において、末梢血中血管血球系幹細胞数の低下と神経代謝の低下が関連していること、さらには③MMSE や Clinical Dementia Rating により評価さ