

最先端・次世代研究開発支援プログラム  
事後評価書

研究課題名	成体大脳新皮質に存在する新規神経前駆細胞 (L1-INP 細胞) の培養技術の確立と生理的機能の解明
研究機関・部局・職名	藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・准教授
氏名	大平 耕司

## 【研究目的】

大人の脳は、非常に再生しにくいことが昔からよく知られている。そのため、事故や疾病による脳の損傷により、多くの人たちが後遺症を抱えたまま一生を過ごさなければならず、患者の QOL (生活の質) の低下や家族の負担も甚大なものとなっており、一刻も早い治療法の確立が望まれている。

一方、近年になり、大人の脳でも新しい神経細胞が盛んに作られることが、記憶に関連する海馬の歯状回や、においの感覚を伝える嗅球の神経細胞が作られる側脳室下帯で明らかになってきている。これらの領域に存在する神経細胞の元になる神経幹細胞や前駆細胞を利用して、体外で増殖・分化させた後に損傷した脳の領域に移植する方法を開発する試みが行われている。また、再生医療で注目されている人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) を用いた脳・神経系の治療法開発の試みも同じ論理に基づくものである。しかし、損傷部位に存在する神経細胞の種類は多岐にわたるため、幹細胞から治療部位にある多種類の神経細胞に分化させることが困難である。増殖細胞の移植によるがん化などの問題もあり、体外からの細胞移植による脳損傷・疾患の治療法は、まだ開発途上にあるのが現状である。

脳損傷に対する治療法のもう 1 つの柱と考えられているのは、もともと脳内に存在する神経幹細胞や前駆細胞を利用して、体内に存在したまま増殖・分化させる治療法である。この治療法を確立するためには、対象となる脳の領域に存在する神経幹細胞や前駆細胞を同定することが必須である。最近の研究により、損傷によって大脳新皮質における神経細胞の新生が報告されており、脳内に大脳新皮質の神経細胞を産生する神経幹細胞や前駆細胞が存在するのではないかと推測されていた。しかし、成熟期の大脳新皮質の神経幹細胞や前駆細胞が、どこに存在し、どのような性質を有しているのか、これまでほとんど明らかにされていなかった。

このような中で、研究代表者らは、成体ラットの大脳新皮質 1 層に新しい神経前駆細胞を発見し、L1-INP 細胞 (Layer 1 Inhibitory Neuronal Progenitor cell: L1-INP cell) と名付けた。さらに、L1-INP 細胞は前脳虚血を起こすと盛んに分裂し抑制性神経細胞を産生した。また、ラットの行動実験により、新しく作られた抑制性神経細胞が神経回路に組み込まれていることも報告した。

新生神経細胞に含有されているニューロペプチド Y とソマトスタチンには、神経細胞の活動を抑制することにより、神経回路の異常な電氣的興奮状態であるてんかん

を抑える機能がある。新生神経細胞の80%がGABA作動性であったことから、L1-INP細胞の増殖・分化、新生神経細胞の生存を制御することができれば、脳卒中が原因で起こるてんかんやそれに付随する認知機能の低下を防ぐ治療法の開発につながることを期待される。また、統合失調症などの精神疾患では、大脳新皮質において、抑制性神経細胞の数が有意に低下することが知られており、抑制性神経細胞を増殖・維持させることができれば、精神疾患に対する新しい“細胞治療法”に結びつく可能性がある。

以上、これまでのL1-INP細胞に関する研究により、L1-INP細胞の増殖・分化を制御することができれば、てんかんやそれに付随して起こる認知機能の低下、さらに精神疾患に対する“内因性神経前駆細胞L1-INP細胞を活用した新しい治療法”に結びつく可能性が示唆された。本提案では、その新しい治療法の実現に向けて研究をさらに発展させるために、(1) L1-INP細胞を培養する技術、さらに(2) L1-INP細胞から生み出される新生神経細胞の生理的機能を明らかにすることを目指した。

#### 【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
	優れた成果が得られている
○	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

#### 【所見】

##### ① 総合所見

当初の研究目的は(1) L1-INP細胞を培養する技術の確立、及び(2) L1-INP細胞から生み出される新生神経細胞の生理的機能を明らかにすることであった。そのうち(1)に関してはL1-INP細胞由来のNeurosphereを作製することに成功しており一定の成果が得られた。ただ、(2)に関しては、当初の目標① L1-INP細胞に特異的に発現する遺伝子を同定する。②同定した遺伝子プロモーターを利用してL1-INP細胞特異的なトランスジェニックマウスラインを作製する。③作製したL1-INP細胞特異的GFP発現マウスからL1-INP細胞を単離培養する。④作製したL1-INP細胞特異的Creリコンビナーゼマウスを用いて、L1-INP細胞に由来する新生神経細胞のシナプス伝達を可逆的にon/offできるマウスを作製し、これら細胞の機能を解明する、のうち最初の①が達成できないことが判明したため、他の②-④研究も予定どおり遂行できなかった。このため、計画を変更し、抗うつ薬の一つであるフルオキセチンがL1-INP細胞の増殖・分化を促進させ、抑制性神経細胞を産生させる作用があることを見出した。この発見は抑制性神経細胞の機能不全との関係が推測されている統合失調症、てんかんなどの疾患の治療法の開発につながる可能性をもつ成果と考えられる。ただ、当初の研究目的からみれば優れた成果が得られたとはいえないと思われる。

## ② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

上述のように当初の研究計画のうち(1)はほぼ達成されたが(2)の4項目は最初の① L1-INP 細胞に特異的に発現する遺伝子を同定する、が達成されなかったため②以降の研究もほぼ手つかずの状況となった。このため、計画を変更し、抗うつ薬の一つであるフルオキセチンが L1-INP 細胞の増殖・分化を促進させ、抑制性神経細胞を産生させる作用があることを見出した。この知見は、上述のように一定程度評価できるが、当初の研究目的からみれば当研究の目的は一部のみ達成されたと考えざるをえない。

## ③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が  
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が  
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

研究代表者が開発した L1-INP 細胞培養技術は、国内外の研究グループに対して若干の先進性・優位性を有する。また、当初計画されていなかった研究ではあるが、成体マウスにフルオキセチン(抗うつ薬)を投与すると、L1-INP 細胞の増殖分化が促進され脳虚血後の神経細胞死が抑えられることが明らかになった。将来の発展性が見込まれる成果といえる。

ただ、以上の結果は、ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果ではない。当初の目的以外の成果としては、上述のように、成体マウスにフルオキセチンを投与すると、L1-INP 細胞の増殖分化が促進され脳虚血後の神経細胞死が抑えられることが明らかになった。また、カニクイサルやマーモセットなどの霊長類の脳皮質1層にも L1-INP 細胞が存在することを発見した。これらは、当初は計画されていなかった研究の成果であると思われる。

## ④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が  
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が  
(見込まれる ・ 見込まれない)

L1-INP 細胞に由来する新生神経細胞の機能が未解明であるため、現状では関連研究分野への波及効果を見込むことはできない。

フルオキセチンによる虚血神経細胞の保護作用の研究が大幅に発展すれば、社会的・経済的課題への貢献が期待できるが、現状ではこのような効果を見込むことはできない。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

当初の研究目的達成のため、計画を変更して成果が得られるよう努力した点は評価できる。ただ、研究実施に関与する人員が研究代表者と技術補佐員2名だけであり、このような予算規模の研究を遂行するには不十分な体制だったのではないかと思われる。会議発表および新聞・一般雑誌等への掲載は十分であるが、ハイインパクトな国際誌への論文発表が無く（2014年にScience誌の海馬に関する論文で15人中11番目の著者となっているが、これは本研究に関したものではない）、今後の発表が望まれる。また、国民との科学技術対話に関しても、研究結果のホームページ掲載が主で、より直接的な対話は十分になされていないように思える。