

平成15年度自治医科大学大学院 研究奨励賞研究成果報告

サル ES 細胞由来神経幹細胞を用いた疾患モデル動物への移植治療

地域医療学系 精神・神経・筋骨格疾患学
4 学年 永田三保子

黒質ドパミン細胞の変性によるパーキンソン病は慢性進行性疾患であり、L-ドーパなどの治療薬で改善が見られるが長期にわたると薬効の減弱や副作用が出現し未だ根治治療はない。マウス ES 細胞 (embryonic stem cell) からドパミン細胞を分化させ、パーキンソン病モデルラットの線条体に移植し症状が改善した例が報告されている。しかし今後目指すのはヒト ES 細胞を用いたヒトへの移植治療であるため、ヒト ES 細胞とほぼ同じ性質を示すカニクイザル ES 細胞を用いて、神経幹細胞への分化誘導およびパーキンソン病モデルサルへの移植治療を試みた。

今回 conditioned medium を工夫した培地条件により分化させ、神経幹細胞のマーカーである nestin 陽性細胞が 99.5% 出現した。また培養を継続すると分化が進み neurofilament 陽性細胞が多数見られ、うちドパミン細胞のマーカーである tyrosine hydroxylase (TH) 陽性細胞は 70% と高率であった。1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine を毎週静脈内投与したカニクイザルのパーキンソン症状が 2 ヶ月間安定したのち、サル ES 細胞由来神経幹細胞 (total 1×10^5 個) を定位脳手術により左被殻へ注入した。移植細胞にはマーカーとして green fluorescent protein (GFP) 遺伝子を導入した。

Positron emission tomography (PET) にて [^{11}C] L-Dopa および [^{11}C] β -CFT/DAT (dopamine transporter) の測定を 12 週間行ったところ、左線条体で両者の取り込みが増大していた。またドパミン受容体の antagonist である [^{11}C] raclopride は、ドパミン神経終末から

ドパミンを放出させる amphetamine を注入後、左線条体で binding potential が低下していた。組織染色では左線条体で TH 陽性細胞が見られこの細胞は GFP も陽性であった。行動解析では scale 上わずかではあるが改善が見られた。以上から神経幹細胞が脳内でドパミン細胞に分化し、ドパミンの放出が起きたと考えられる。ドナーソースとして多能性幹細胞である ES 細胞を用いた細胞移植治療は今後有用である。

静脈麻酔薬の作用メカニズムにおける NMDA 受容体の関与

地域医療学系 麻酔・救急・集中治療医学
佐藤 友紀

全身麻酔薬は、電気生理学的解析や身体反応から、興奮性全身麻酔薬 (ケタミン, 亜酸化窒素, キセノンなど) と抑制性全身麻酔薬 (ペントバルビタール, ジアゼパム, プロポフォール, ハロタン, セボフルランなど) に分類されると考えられている。さらに最近、神経伝達物質の受容体レベルの研究が進み、全身麻酔薬の作動部位としては主に GABA_A 受容体や NMDA 受容体が想定されている。今回、興奮性全身麻酔薬は NMDA 受容体に、抑制性全身麻酔薬は GABA_A 受容体にそれぞれ関与しているとの仮説のもとに、NMDA 受容体の関与を時間薬理を含めて NMDA 受容体 $\epsilon 1$ サブユニットノックアウト (KO) マウスを用いて、*in vivo* レベルで解析を行った。

ケタミンの正常マウスにおける麻酔効果はサーカディアンリズムを示すが、NMDA 受容体 $\epsilon 1$ サブユニット KO マウスにおいては時間薬理学的効果が消失し、いずれの時間帯においても正常マウスに比べ麻酔効果は減弱していた^{1,2}。正常マウスではケタミンの投与時刻によって血中濃度の推移に相違が認められないことから、この結果は時間帯による NMDA 受容