

# 研究成果報告書

---

## 神経幹細胞移植による側頭葉てんかんの治療の可能性の検討

---

(16591439)

平成16年度～平成18年度科学研究費補助金  
(基盤研究(C)) 研究成果報告書

平成19年5月

研究代表者 鈴木 文夫  
(滋賀医科大学医学部講師)

滋賀医科大学図書館



2006014401

## は し が き

本報告書は“神経幹細胞移植による側頭葉てんかんの治療の可能性の検討”に対し交付された科学研究費の成果を報告するものである。報告の内容は移植に関するものと、その研究を行う間に必要となった“神経前駆細胞とてんかん源性の関係について”の研究に関するものである。

## 研究組織

研究代表者：鈴木 文夫（滋賀医科大学医学部講師）

研究分担者：黒川 清（滋賀医科大学解剖学助教授）

研究分担者（平成16年度）：道端 英雄（田辺製薬株式会社・先端医学研究所 研究員）

研究分担者（平成16年度）：門田 奈依（田辺製薬株式会社・先端医学研究所 研究員）

## 交付決定額（配分額）

|        | 直接経費    | 間接経費 | 合計      |
|--------|---------|------|---------|
| 平成16年度 | 2,500千円 | 0円   | 2,500千円 |
| 平成17年度 | 500千円   | 0円   | 800千円   |
| 平成18年度 | 600千円   | 0円   | 600千円   |
| 総計     | 3,600千円 | 0円   | 3,600千円 |

## 研究発表

### (1) 学会誌

Suzuki F, Heinrich C, Boehrer A, Mitsuya K, Kurokawa K, Matsuda M, Depaulis A. Glutamate receptor antagonists and benzodiazepine inhibit the progression of granule cell dispersion in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 46: 193-202, 2005

Nitta N, Heinrich C, Hirai H, Suzuki F. Progenitor cell generation is not necessary for the development of granule cell dispersion and mossy fiber sprouting in the mouse model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* (投稿中)

Heinrich C, Nitta N, Flubacher A, Müller M, Fahrner A, Kirsch M, Freiman T, Suzuki S, Depaulis A, Frotscher M, Haas CA. Reelin deficiency and displacement of mature neurons, but not neurogenesis, underlie the formation of granule cell dispersion in the epileptic hippocampus. *J. Neurosci.* 26: 4701-4713, 2006.

### (2) 口頭発表

Haas C.A., Heinrich C., Nitta N., Flubacher A., Müller M., Fahrner A., Kirsch M., Freiman T., Suzuki F., Depaulis A., Frotscher M. Reelin Deficiency and Displacement of Mature Neurons, but not Neurogenesis, Underlie the Formation of Granule Cell Dispersion in the Epileptic Hippocampus. FENS meeting, Vienna, Austria, 2006 July 8-12

Suzuki F, Mitsuya K, Nitta N, Depaulis A, Matsuda M. Recurrent seizure lead to zinc depletion in mossy fiber terminals in the kainate model of mesio-temporal epilepsy. 26th international epilepsy congress. 2005年8月28日—9月1日、Paris, France.

Nitta N, Suzuki F, Matsuda M. Neurogenesis is not necessary for granule cell dispersion of the dentate gyrus in kainate-mouse model of mesio-temporal lobe epilepsy. 26th international epilepsy congress. 2005年8月28日—9月1日、Paris, France.

## (1) 神経幹細胞移植による側頭葉てんかんの治療の可能性の検討

要旨：側頭葉てんかんにおいては、抑制系神経細胞の脱落がてんかん病態進行の主要な一因とされる。この減少した神経細胞を移植で補うことにより、その病態の進行を抑制できるのではないかと期待し研究を行った。

微量のカイニン酸を定位的に右側海馬に投与しモデルを作成、次いで移植を行った。移植組織としては、近い将来には臨床に置いても使用可能となる可能性を重視し、まず培養神経幹細胞、骨髄由来の間葉系細胞で行った。培養神経幹細胞は生着率は低く、一部生着した移植片も神経組織への分化傾向は得られなかった。骨髄由来間葉系細胞では生着が得られなかった。最終的に臨床使用への発展性は期待出来ないが、生着率、分化能ともに最も優れていることと期待出来る胎児脳組織の移植を試みた。実際に胎児脳移植は生着も良く認められ、神経細胞への分化も認められた。この胎児脳移植を行ったマウスを使用し、組織学的、電気生理学的検討を行った。

胎生 19-20 日目の海馬を取り出し、処理した後細胞移植した群と、単に細切のみの処置と細いハミルトン針に吸引して移植した群（組織移植群）の 2 グループで検討した。移植細胞は BrdU により標識した。組織移植群では生着はよく、移植後 4-6 週では神経細胞の形態を示す細胞が多数認められた。細胞移植群は海馬周辺の髄液腔での生着は多く認められたが、海馬内の生着細胞は少なかった。これら移植マウスについて脳波記録を段階的に施行し、対照群と比較した。組織の検討では移植片内に神経細胞へ分化を示す DCX 陽性が認められ、さらに GABA 陽性細胞、VGlut1・2 陽性のグルタミン系細胞へ分化した細胞も認められた。しかし、実際に移植細胞の神経突起が recipient 側に伸長している所見は乏しかった。また神経細胞への分化傾向は同条件で移植されたマウス間でも一定の傾向はなかった。このマウスでは高頻度に発作を繰り返すが、脳波結果の解析から移植群と対象群には有意な差は認められず、移植による発作抑制効果は認められなかった。

今回の検討では移植後 3 ヶ月までの経過観察を行ったが、最終的に有効な移植細胞と recipient との融合を得ることは充分には得られなかった。このため脳波への抑制効果も発現していなかった可能性があり、移植治療が機能改善には寄与しないという結論には到達出来なかった。移植片が宿主細胞との神経ネットワークを構築するということが期待されるわけであるが、実際にその構築を得ることはこれまで

他のモデルの報告でも容易ではない。その達成には極めて至適かつ厳密な移植条件が必要とされるものと考えられた。また今回の移植で数匹のマウスで GABA 陽性細胞が認められた。パーキンソン病の移植のように移植片から遊離される神経伝達物質が神経構築をなさずとも生体ポンプとして作用することがあるが、今回一部で見られた GABA 陽性細胞程度より遊離される抑制物質の量では有意なてんかん性異常脳波の発生には抑制効果が得られないことが示された。

## 緒言

神経再生の研究は神経幹細胞を中心に近年急速に発達し、将来の臨床応用を目的に多くの新しい知見が報告されている。この神経幹細胞を用いた神経再生を促進する方法は大きく 2 つに分けられる。ひとつは内在性の神経幹細胞の増殖・分化を神経栄養因子や接着因子などの投与にて促進する方法で、もうひとつは外来性に神経幹細胞を移植する方法である。この神経幹細胞移植による再生治療は減少した神経細胞を増加させ、必要な神経連絡を構築することであり、これまでの研究対照疾患はパーキンソン病、脳梗塞、脊髄損傷などが中心であり広く研究されているが、てんかんについての研究は少ない。

側頭葉てんかんにおいても海馬アンモン角の錐体細胞や門部の GABA 系細胞の欠落が認められ、歯状回顆粒細胞の突起である苔状線維の正常な神経網の減少と神経萌芽による異常な神経網の形成も認められ、神経再生による治療の可能性が考えられる。

そこで、今回の研究では我々が見出し、これまで研究してきたマウス側頭葉てんかんモデルを用い、その海馬内に神経幹細胞を移植し、その形態変化、てんかん発作に伴う脳波変化を検討する研究を計画した（図 1）。てんかんの移植治療についてはこれまでの報告では、まだ有効/無効については結果が少なく、判断できない状態である。今回の研究ではこれまで研究されていないモデルを用い研究することにより、動物モデルとしてではあるが、その可否についての生理学的、病理形態上の基礎データを得ることを目的とするものである。

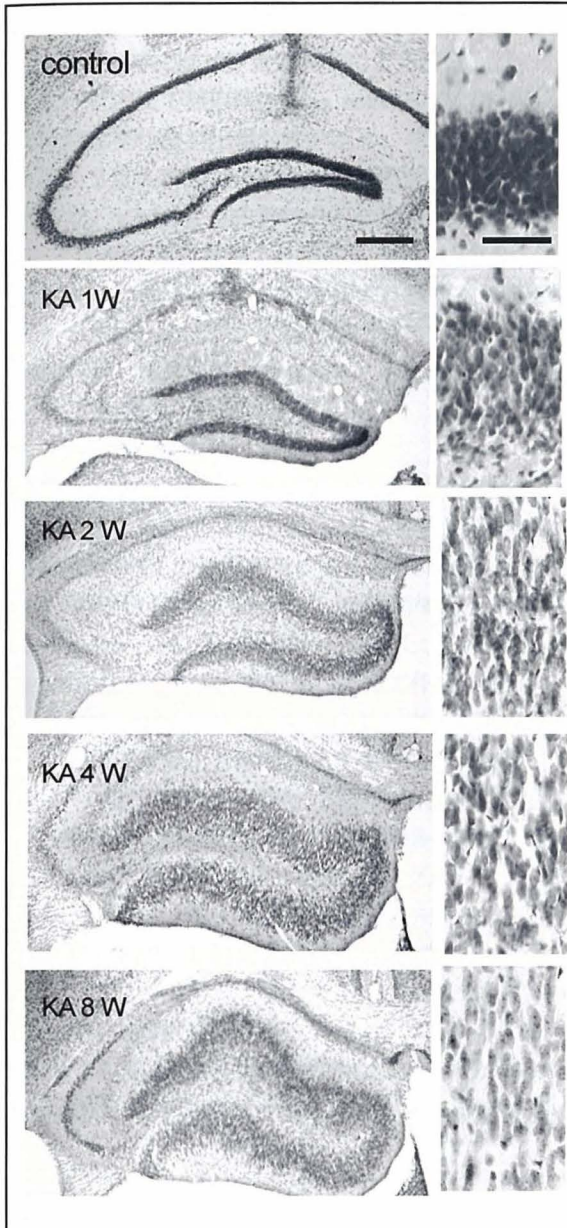


図1：カイニン酸投与後の海馬の形態変化  
 低倍の海馬全体像と歯状回の拡大像を示す。正常対照では顆粒細胞は小さな核に少ない細胞質を持ち、互いに隣接し集族をなしている。カイニン酸投与後は核・細胞質ともに拡大し、次第に紡錘状の形態と変化する。密な細胞分布は次第に細胞間隙が拡大（顆粒細胞分散）した。この変化はカイニン酸投与後1週目より明らかで、投与後8週目までは進行性に認められた。このような強い進行性の形態変化は他のモデルでは見られないもので、このモデルの特徴を示すものである。

## 実験材料と方法

### 1：実験動物と手術法について

マウスの実験、飼育は“滋賀医科大学動物実験に

関する指針、滋賀医科大学実験動物飼育に関する指針に従い行った。

C57Bl-6j 成獣雄マウス（週令8-10週、日本クレア）を使用した。ネブタール（30-40mg/kg ip）あるいは抱水クロラール（350mg/kg, i.p.）で麻酔後、定位脳手術装置に固定し、以下の coordinate(1: AP-1.8 mm, L 1.5 mm, D 1.7 mm, 2: AP-2.7 mm, L 2.4 mm, D 2.3 mm)にて右側背側海馬にカイニン酸（KA、160ng/005ml 生理食塩水）を投与しモデル動物を作成した。

KA 投与後7日目に再度上記と同様の方法にて麻酔後、定位的に（AP 2.0 mm, L 1.7 mm, D 1.9mm）下記の組織の移植を行った。

### A：培養神経幹細胞

田辺製薬株式会社・先端医学研究所の研究分担者により調整された培養神経幹細胞を使用。5 x 10<sup>5</sup> cell/μl を 2μl 移植した。

### B：マウス骨髄間葉系細胞

共同研究者の黒川により採取、培養された細胞を使用した。成獣マウスを大量のネブタール（100mg/kg）にて深麻酔後、頸椎脱臼にて屠殺し、大腿骨、脛骨を切断し、21G 針にて 5ml DMEM+10% fetal bovine serum, 2mmol/L L-glutamine, 100units/ml penicillin G, 10% heparine で骨髄を洗い出した。洗浄遠沈の後、DMEM/10% FBS の入った collagen I (Becton Dickson Labware) を coat した tissue culture flask 内に 10-15 X 10<sup>6</sup> cell を播種し、nonadherent cell は捨て培養液の交換を繰り返し調整した。この細胞を 5 x 10<sup>5</sup> cell/μl を 2μl 移植した

C：胎児海馬組織は顆粒細胞が未発達である胎生16日より採取した。Donar cell の標識のため妊娠10日目より連日 BrdU (100mg/kg) を母マウス腹腔内に投与した。妊娠16日目に母マウスをネブタールにて全身麻酔した後、開腹した。胎児を取り出し断頭後、培養液内で両側海馬を取り出した。1群の実験ではこの海馬を細切後、pipetting、mesh filtration し、遠沈にて回収後 10<sup>5</sup> cell/μl に調整した（細胞移植）（文献）。他の実験では、摘出した胎児海馬を荒く細切したのち、直接 23G の Hamilton syringe に吸引して移植した（組織片移植）。

### 2：脳波電極設置、脳波測定

移植後10週にて全身麻酔（前記）の後、定位的に双曲電極を右海馬内（AP:-2mm, L:1.7mm, D:1.9mm）に挿入、冠状縫合約 1mm 後方で両側に大脳皮質電極を設置、小脳正中表面上にアース用電極を設置した。これら電極は、cyanoacrylate

系接着剤で補強した methyl methacrylate にて頭蓋にて固定。脳波電極設置翌日より、脳波測定を施行した。測定時にはビデオカメラによる撮影も行った。ケージ内にて無麻酔、free moving ではあるが、安静時に発作波が出現し安いため、午前・午後と2日間、2度の計測で体動の少ない時間帯（多くは午前）で、ビデオより安静時のみの脳波時間帯を選択し、この間の海馬電極より得られる脳波を検討した。異常波は5秒以上持続する背景より際立った高振幅なものと規定し、その1時間あたりの回数、1回の持続時間、異常波の占める割合などを調べ、移植群とKAのみ投与した群で比較した。

### 3：組織学的検査法

脳波測定後、大量のネプタール (100mg/kg) にて深麻酔後、10ml の4℃ 0.1Mリン酸緩衝液(PBS)で前灌流後 50ml の4%パラフォルムアルデヒド/PBSにて灌流固定した。同液にて12時間後固定の後、15% sucrose. PBS で cryoprotection し、30μm の cryostat section を連続切片として作成した。

切片は Cresyl violet で染色し、カイニン酸投与後の海馬形態変化と移植片と電極の位置を確認した。移植片の確認には BrdU 免疫組織化学にて、さらに行い、機能分化の評価は下記の免疫組織化学にて行った。神経前駆細胞：doublecortin, グルタミン神経終末：VGluT1, VGluT2, GABA 神経終末：GABA, 神経膠細胞：GFAP, 亜鉛含有終末（顆粒細胞の神経終末）：ZnT3

### 4：結果の解析・統計法

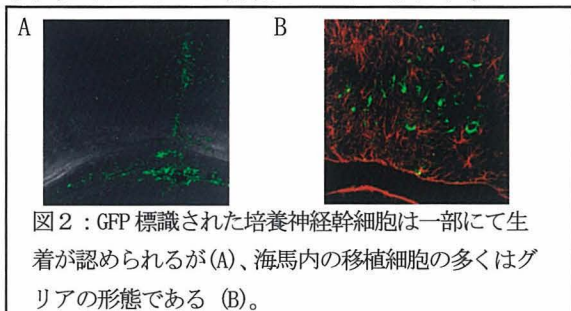
脳波の結果の統計には多群間にはクラスカル・ウォリス検定、2群間にはマン・ホイットニ検定を用いた。

## 結果

### 1: 移植細胞生着について

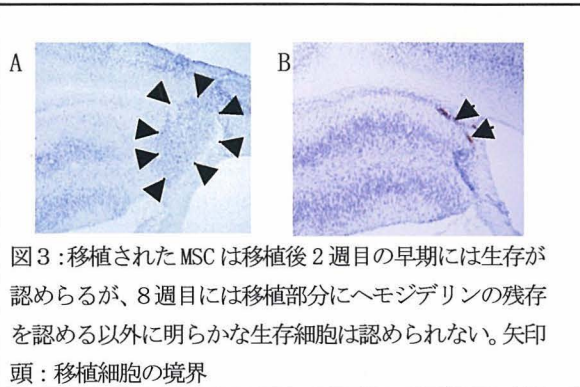
#### (A) 培養神経幹細胞

ごく少量の移植片の生着が一部に見られたが、長期間経過したものでは多くの移植細胞は変死脱落していた。ごく少数のみ移植片の生着が認められる場合が認められたが、神経細胞への分化傾向は認められず、多くはグリアに分化していた (図2)。



### (B) マウス骨髄間葉系細胞 (MSC)

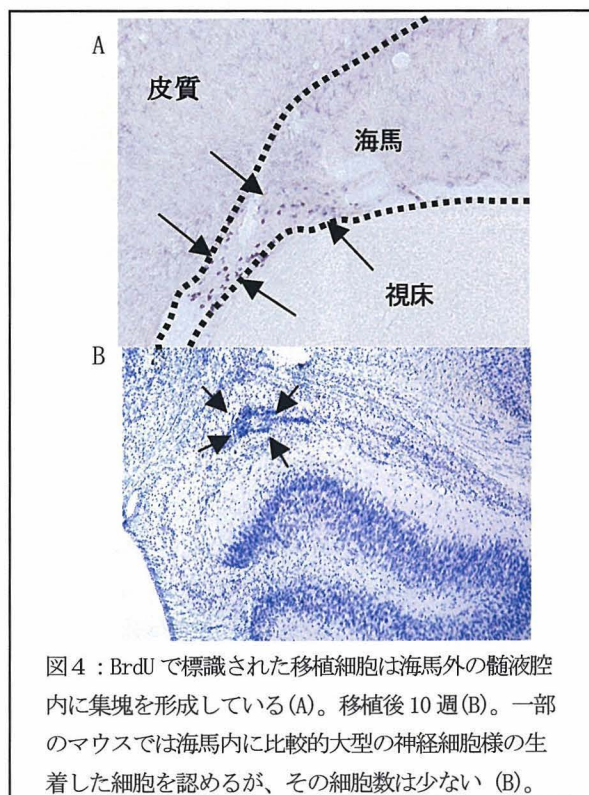
移植後早期における確認では移植細胞が確認できる場合もあった (図3A) が、移植後8-10週では5例中5例とも移植細胞はほぼ認められなくなっていた (図3B)



### (3) 胎児海馬組織

#### 3-1 分離細胞移植

移植細胞の生着についてはMSC、神経幹細胞に比べ良好であったが、移植細胞数に比し生着した細胞数は低かった。移植手技の問題もあり、側脳室内などへの漏れが少なくないことも BrdU 標識の結果認められた (図4A)。移植を施行した17匹中、8匹で何らかの生着が認められたが、海馬内に生着が認められたものは4匹 (図4B) であり、この4匹について、免疫組織化学の検討と脳波の解析を施行した。



### 3-2 海馬組織片移植

9匹に施行した。そのうち7匹で生着を認め、6匹は海馬内に認められた(図5)。2匹については脳波電極に問題があったため、残りの4匹にて脳波を検討した。

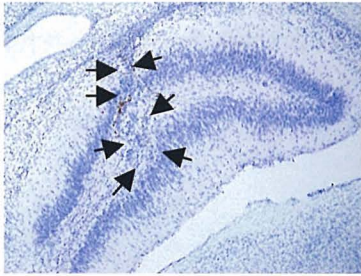


図5：移植後10週。顆粒細胞の分散した巨大な歯状回がほぼ海馬全域を占拠している。その歯状回の中に比較的大型の神経細胞様の形態をした移植細胞群(矢印)が生着している。

#### 2：胎児海馬移植の組織学的検討

主に生着の良好であった組織片移植の切片を用いて検討した。

・ Doublecortin (DCX) : 新生神経細胞のマーカーとして使用されている。このモデルではカイン酸投与後に進行性に DCX 陽性細胞は変性脱落し、カイン酸投与後1週間で消失する (Heinrich)。よって移植片内の DCX 陽性細胞は移植組織由来のものが分化したものであると考えられる。培養神経幹細胞の移植では少ない生着細胞のほとんどが GFAP 陽性のグリア系細胞に分化していたのに対し、海馬組織片移植では少数ながら DCX 陽性細胞が認められた(図6 A, B)。Recipient の脳梁に見られる遊走中の DCX 陽性細胞(図6-C) と比べ、移植片中の DCX 陽性細胞の突起は微細で染色性はやや薄く、突起自体に varicose 様の所見も認められた。ただ移植片内に全体に認められる所見ではなく、同じ移植片内の一部に習俗してみられる傾向があった。

・ Vesicular Glutamate transporter (VGluT) 1, 2 : VGluT 1, 2 は glutamate を synaptic vesicle に transport するもので、最も安定して glutamate 陽性神経終末の分布を表す。VGluT 1 と 2 は海馬では reciprocal に分布している。このマーカーを指標に移植細胞のグルタミン陽性神経への分化を検討した。移植片内には多数の陽性神経を認めたが、その分布は一様ではなかった。また個体差も強く、図のような多数の陽性細胞や終末を認める場合や一部に淡い染色のみの場合が認められた。

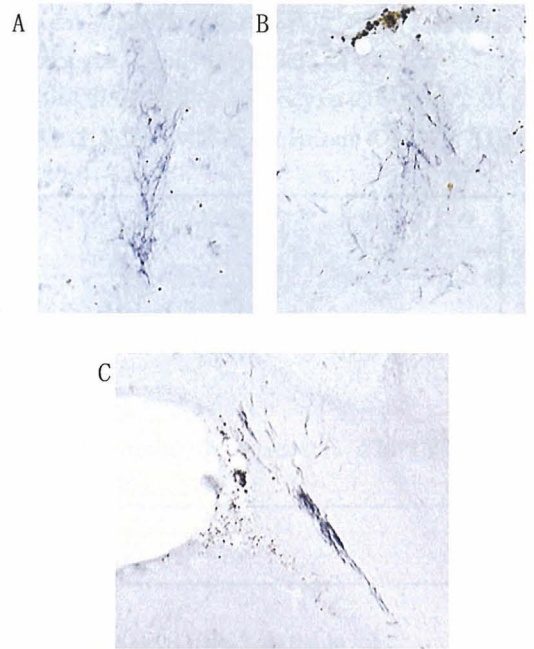


図6：DCX 陽性細胞。A-B: 胎児海馬組織片移植群では、移植組織内に長い突起を持つ DCX 陽性の細胞が認められる。Cは移植片の脱落部位へ recipient 由来の DCX 陽性細胞が脳梁内を遊走している所見であるが、この細胞群では突起はらせん状の形態で太く短い。移植片内のは、細い突起の一部が varicose 様の形態をしており、より分化した神経細胞の形態である。

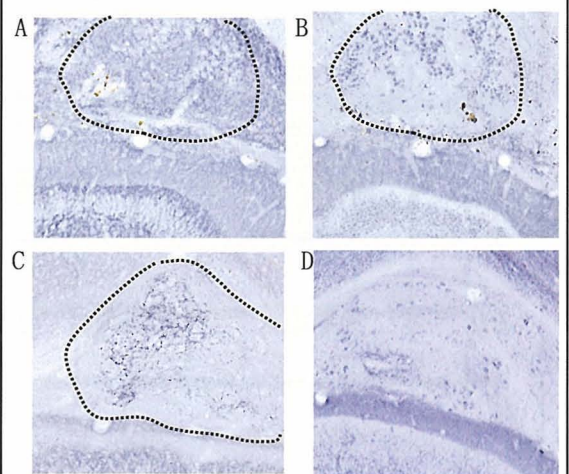


図7：VGluT1:A, C, VGluT2:B, D。AとB: mirror section。VGluT1 はAのように一様に染まる場合や、Cの様に一部が薄く一部で濃密に染まる場合が認められる。VGluT2についてはBのように強く陽性の細胞群が認められる場合は少なく、Dのように陽性細胞が少数散在することが多く認められる。

・GABA: このマウスでは、これまでの研究より glutamate > GABA の状態であり、移植によりその増生が最も期待されるが、全体として GABA 発現細胞の増加は乏しかった。また他の transmitter と同様に移植個体間によっても差が大きく認められた。移植組織内の GABA 陽性細胞の神経突起の伸長は乏しく、移植組織片外への突起の伸長による recipient との神経ネットワークの形成は認められなかった。

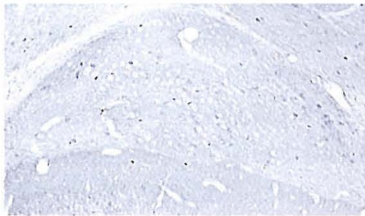
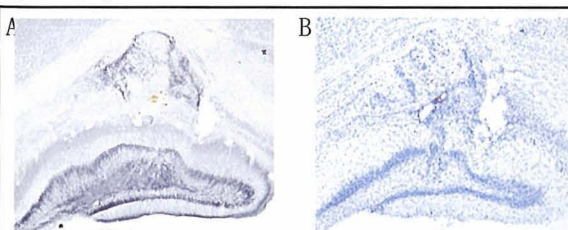


図8: GABA immunohistochemistry 移植片内には GABA 陽性細胞が認められる。移植片周囲に見られる GABA 陽性細胞とサイズ、染色性についてはほぼ同様であるが、移植片中央に多く認められ、海馬との移行部に増加している所見や境界を越えた神経突起は認められない。

・ZnT3: 亜鉛の transporter で海馬ではグルタミン終末である歯状回顆粒細胞の苔状線維終末に強く集積している。今回施行した胎児移植では全海馬の移植であるため、顆粒細胞も混在しているため、その分化が進行すれば強い集積が生じることとなる。また ZnT3 陽性終末は広く recipient の海馬にも存在し、recipient 側の sprouted fiber が移植片内に伸長していることも検出出来る。ZnT3 については、移植片の生着が大きいものでは全例に陽性終末が認められた。このマウスでは強く sprouting した苔状線維が歯状回の supragranular molecular layer にも強く sprouting しているが、その部分より移植片内へ連属する ZnT3 陽性線維は認められなかった。移植片内の ZnT3 陽性終末の分布も移植片内であり、移植片と recipient との神経ネットワークの形成は認められなかった。



ZnT3 immunohistochemistry      Cresyl violet  
 図9: 海馬には高度の mossy fiber sprouting が認められ、移植組織片内にも同様に ZnT3 終末が認められ、B で認められる移植片の領域内外でのこれら陽性終末の連続性はない。

・GFAP: 移植片中の GFAP 陽性細胞の増加は recipient の海馬に見られる程度であり、移植片が astrocyte に分化する傾向は強くはなかった。移植片周囲にも高度な astrocyte の増加はなく、移植された細胞に対する recipient の反応もさほど強くなかった。

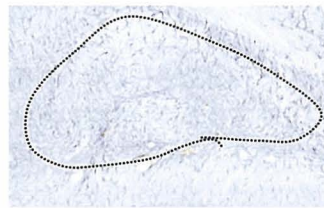


図10: GFAP immunohistochemistry, 点線は移植片の位置を示す。

### 3: 脳波の検討

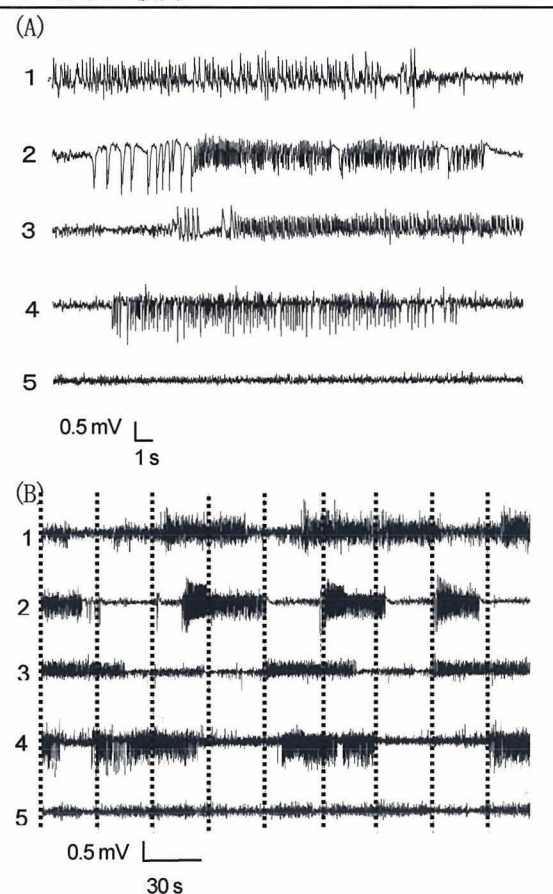


図11: 代表的な脳波所見。5匹の抜粋ではなく実施に5匹を同時記録したもの。

1-4: カイニン酸投与+海馬組織移植マウス  
 5: カイニン酸非投与マウス

(A) 1-4 で背景脳波より際立った高振幅の鋭波の burst が認められる。一方、カイニン酸非投与マウスでは高振幅な異常波は認められない。

(B) 上記脳波を30倍短縮したもの。カイニン酸投与群では発作波を短時間に繰り返し生じている。

移植後 10 週目 (カイニン酸投与後 11 週) に脳波の測定を行った。以下の 3 群で比較を行った。

- (1) vehicle 投与後に胎児海馬細胞移植を施行したが生着のなかった群 (カイニン酸非投与群)
- (2) カイニン酸投与後移植を施行しなかった群 (非移植群)
- (3) カイニン酸投与、移植後生着の確認された群

i:胎児海馬細胞移植群 dissociated cell

ii:胎児海馬組織移植群 hippocampal block

図 10 に示すように発作波の同定は容易であり、それぞれの群について単位時間あたりの発作回数、持続時間、総発作時間を調べ比較した。

カイニン酸非投与群では連続する高振幅異常波は認められなかった。すなわち、vehicle の投与や移植時の trauma は今回計測した発作波に関与するものではないことが示された。

1 時間あたりの発作回数は非移植群で  $40.3 \pm 3.3$  回 (mean  $\pm$  S. E, N=4)、胎児海馬細胞移植群で  $30.9 \pm 3.5$  回 (N=4)、胎児海馬組織移植群では  $48.6 \pm 5.5$  回 (N=4) であった。クラスカル・ワリスの順位検定では 3 群間に有意差は認められなかった。また非移植群:移植群間でも有意差は認められなかった (マン・ホイットニ検定)。

1 回あたりの発作時間は平均で非移植群  $43.9 \pm 23.2$  秒 (mean  $\pm$  SD)、胎児海馬細胞移植群で  $45.9 \pm 28.2$  秒、胎児海馬組織移植群では  $38.4 \pm 26.5$  秒であり、組織移植群でやや短い傾向が認められたが、クラスカル・ワリスの順位検定では 3 群間に有意差は認められなかった。また非移植群:移植群間でも有意差は認められなかった (マン・ホイットニ検定)。

1 時間あたりの延べ発作時間は非移植群で  $1732.5 \pm 91.2$  秒、細胞移植群で  $1654.7 \pm 89.0$  秒、組織移植群で  $1831 \pm 441.6$  秒であった。上記と同様に 3 群間、あるいは移植群:非移植群間にも有意差は認められなかった。

## 考察

### 移植組織について

生着と分化については胎児細胞がもっとも良い結果であり、培養神経幹細胞は生着率が低く、また神経への分化は極めて不良であった。これまで多数の神経幹細胞移植が報告されているが、われわれの使用した細胞は dissociate され、継代されたものであり、neurosphere に近い分離細胞ではないことが問題であった可能性が高いと考えられる。骨髄間葉系細胞は donar として autograft の可能な組織として重要であるが、今回の結果では最も生着が不良で、単独では長期生存・分化は可能性が極めて低いと考

えられた。胎児海馬組織移植は臨床使用への発展性は極めて可能性の低い組織であるが、実験としては最も効率の良いものであった。この研究の目的としては、移植によるてんかん源性への影響を調べることが主たる目的であり、移植片が生着しなければ成立しないため、最終的にはこの胎児海馬組織を用い研究を行った。

### 胎児海馬移植の神経分化について

神経幹細胞移植では生着も不良であったが、生着した細胞自体が神経細胞へ分化するものが少なく、多くはグリアに分化したのに対し、胎児移植片では神経細胞への分化が比較的多く認められた。ただし、以下の問題点が認められた。問題点 1:生着についてはブロック状に移植した組織移植群が分散細胞にした群より明らかに良好であった。しかし今回の研究では両群とも移植片内での分化は認められるが、recipient の組織内まで神経突起をのぼしている所見がほとんど認められなかった。過去の報告では、ほとんどの報告で分散した細胞での移植が行われており、network 形成があるとするものもあり、効率は悪いものの、細胞移植についても今後の再検討が必要である (Ashok et al)。

2:donar-recipient 間の neural network の形成ができない場合においても、移植片が hormonal に trophic support や GABA の供給源として、てんかん源性を修飾する可能性がある。しかし、今回の結果では定量化はできていないが、移植片内には全体として、ZnT3 陽性終末や VGluT 陽性終末など glutamatergic neuron が抑制系である GABA 陽性神経より強く発現していた。

問題点 1 については移植から 10 週目の検討であり、より長期間観察すれば、network の構築は進む可能性はある。今回の結果として A) DCX 陽性神経が recipient 側から移植片に向かって多数認められる所見があったこと、B) かつ移植片周囲に network 形成の障害となる Glial scar の形成が強くなかったこと、C) 11 週の時点でも十分な数の移植細胞が残存していたことより、11 週以後もさらに network の形成を期待出来る所見が認められていた。11 週以上という長期の経過がどれだけ不可逆的なてんかんの進行を来すかは問題であるが、今後はさらに長期の検討が必要と考えられた。

問題点 2 については、個体差が大きいことも問題である。特に分化誘導をかけるような内因性、外因性の修飾を行わず、単に未分化な細胞を移植



するだけではコントロールしがたいことと予測される。特に移植片として行った場合には、移植片の中央では recipient からの影響を受けにくい。この点の克服には、やはり移植組織自体に抑制系細胞への移植を促進する条件を付けるなどの処置、あるいは recipient と接触を生じやすい細胞移植が必要と考えられた。

#### 脳波の変化について

今回脳波を定性的に評価したことによって、このモデルでは比較的個体差の少ない、かつ極めて頻回な発作を生じていることがわかった。

上記の組織の結果からは脳波所見に改善が生じていることを期待ができるものはなかったが、今回調べていない trophic factor などについては移植片から hormonal に作用している可能性はあった。しかし、てんかん発作の生じやすさについては、今回の検討では移植群と非移植対照群間に全く差が認められなかった。

#### 結語

今回の実験では、移植片内の抑制性神経の増加も少なく、network の構築もなかった。より条件の改善が得られれば、てんかん治療における移植医療の可能性が期待出来ないわけではない。てんかんについては Parkinson disease の様に target とする transmitter や trophic factor 自体が明らかでない点が問題であり、より確実に移植とてんかん抑制の関係を示すためには network の形成の証明が重要と考えられる。今回の胎児細胞移植については長期生存が確認出来ており、glial reaction も少ないため、network 形成の障害は少なく、より長期の間ではその形成は期待できる。このマウスモデルはてんかん発作の定量化が容易であり、今後もこのモデルを用い移植組織を中心に手技の改良を行い、追加実験を試行していく予定である。

#### 参考文献

Ashok K. Shetty, Vandana Zaman, and Bharathi Hattiangady. Repair of the Injured Adult Hippocampus through Graft-Mediated Modulation of the Plasticity of the Dentate Gyrus in a Rat Model of Temporal Lobe Epilepsy. *J Neurosci* 25:8391-8401, 2005

Heinrich C, Nitta N, Flubacher A, Müller M, Fahrner A, Kirsch M, Freiman T, Suzuki S, Depaulis A, Frotscher M, Haas CA. Reelin deficiency and displacement of mature

neurons, but not neurogenesis, underlie the formation of granule cell dispersion in the epileptic hippocampus. *J. Neurosci.* 26: 4701-4713, 2006.

## (2) 神経前駆細胞とてんかん源性の関係について

### 既報の論文

#### **Reelin Deficiency and Displacement of Mature Neurons, But Not Neurogenesis, Underlie the Formation of Granule Cell Dispersion in the Epileptic Hippocampus**

Christophe Heinrich, Naoki Nitta, Armin Flubacher, Martin Müller, Alexander Fahrner, Matthias Kirsch, Thomas Freiman, Fumio Suzuki, Antoine Depaulis, Michael Frotscher, and Carola A. Haas.

The Journal of Neuroscience, April 26, 2006 • 26(17):4701–4713

### 投稿中の論文

#### **Progenitor cell generation is not necessary for the development of granule cell dispersion in the mouse model of temporal lobe epilepsy**

Naoki Nitta, Christophe Heinrich, Hisao Hirai, Fumio Suzuki<sup>1</sup>

Epilepsia (Submitted)

(3) 本モデルにおける顆粒細胞分散の成因について、

### 既報の論文

#### **Glutamate receptor antagonists and benzodiazepine inhibit the progression of granule cell dispersion in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy.**

Fumio Suzuki, Christophe Heinrich, Any Boehrer, Koichi Mitsuya, Kiyoshi Kurokawa, Masayuki Matsuda, Antoine Depaulis

Epilepsia 46: 191-202, 2005