

課題番号	LS021
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	血球系細胞と神経細胞の融合を応用した小脳再生技術の開発
研究機関・ 部局・職名	群馬大学・大学院医学系研究科・教授
氏名	平井 宏和

1. 当該年度の研究目的

<p><b>X線照射により小脳に浸み出す単球が増加するのかを明らかにする</b></p> <p>MSCV-GFP マウスの全身あるいは、頭部に限局した X 線照射を行う。対照群との差が可能な限り大きくなるように、脳の耐容線量に近い線量 20Gy を最初の照射線量とする。照射後は通常の飼育を行い、3 カ月および 6 カ月後に 10 匹ずつ脳切片標本を作成し、非照射群のマウスと蛍光顕微鏡にて GFP 発現細胞数の違い及びその免疫組織学的特徴(単球やミクログリアのマーカーで染色)の観察を行う。さらに、小脳に浸み出す単球の数に照射線量依存性があるのかについても調べる。</p> <p><b>野生型マウス、小脳障害マウスへの血球系細胞の移植実験</b></p> <p>放射線照射あり、またはなしの野生型マウス、あるいは小脳失調マウスに、GFP 発現 TG マウスの(1) 骨髄由来細胞、(2) 末梢白血球、(3) 骨髄由来培養間葉系幹細胞、の移植を行う。投与経路は小脳クモ膜下腔に加えて、放射線照射マウスの場合は末梢静脈も用いる。移植後、定期的に運動失調の回復について調べる。また、経時的に、GFP(+)融合プルキンエ細胞の出現とその頻度を調べ、プルキンエ細胞障害に改善が見られるのかを明らかにする。</p>
--

2. 研究の実施状況

<p><b>X線照射により小脳に浸み出す単球が増加するのかを明らかにする</b></p> <p>野生型マウスの全身に X 線照射を行った後、GFP ラベル骨髄細胞を移植した。1 カ月後に頭部に 13Gy 照射し、2 ヶ月後に脳を観察したところ、多数の GFP 陽性のミクログリアが観察された。単球の増加は明らかではなかった。全脳照射の追加を行わなかったマウスでは脳内に GFP 陽性細胞が観察されなかったことから、脳への照射が不可欠であると考えられた。末梢からミクログリアが脳に移行したのは、脳照射によって血液脳関門が障害されたためなのか、あるいは脳実質の炎症に基づくのかを検討している。</p> <p><b>野生型マウス、小脳障害マウスへの血球系細胞の移植実験</b></p> <p>小脳失調マウスにマウスの間葉系幹細胞を髄注、あるいは直接小脳に注射し、定期的に運動失調の程度を観察し、注射していない小脳失調マウスと比較した。間葉系幹細胞の髄注や小脳皮質への注射では運動失調の改善が見られなかった。次にレンチウイルスベクターあるいはアデノ随伴ウイルスベクターを用いて間葉系幹細胞に神経成長因子遺伝子を導入した後、細胞を小脳失調マウスに髄注した。しかし、この処置でも運動失調の改善が見られていない。続いて血球系幹細胞の髄注によって運動失調が改善するのかを調べた。現在、研究を行っているところであるが良好な結果を得ている。</p>
--

様式19 別紙1  
3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 5 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 5 件</p> <p>Mitsumura K, Hosoi N, Furuya N, <b>Hirai H*</b>. Disruption of metabotropic glutamate receptor signalling is a major defect at cerebellar parallel fibre–Purkinje cell synapses in staggerer mutant mice. <i>Journal of Physiology (London)</i> 2011 Jul 1;589(Pt 13):3191–209.</p> <p>Shuvaev AN, Horiuchi H, Seki T, Hanna G, Irie T, Iizuka A, Sakai N, <b>Hirai H*</b>. Mutant PKC<math>\gamma</math> in spinocerebellar ataxia type 14 disrupts synapse elimination and long-term depression in Purkinje cells in vivo. <i>Journal of Neuroscience</i> 2011 Oct 5;31(40):14324–34.</p> <p><b>Hirai H*</b>. Basic Research on Cerebellar Gene Therapy Using Lentiviral Vectors. <i>Cerebellum</i> 2011 Nov 26. [Epub ahead of print]</p> <p>Yoshihara S, Takahashi H, Nishimura N, Narituka H, Shirao T, <b>Hirai H</b>, Yoshihara Y, Mori K, Stern P, Tsuboi A. 5T4 glycoprotein regulates the sensory input-dependent development of a specific subtype of newborn interneurons in the mouse olfactory bulb. <i>Journal of Neuroscience</i> 2012 Feb 8;32(6):2217–26.</p> <p>Jin D, Muramatsu SI, Shimizu N, Yokoyama S, <b>Hirai H</b>, Yamada K, Liu HX, Higashida C, Hashii M, Higashida A, Asano M, Ohkuma S, Higashida H Dopamine release via the vacuolar ATPase V0 sector c-subunit, confirmed in N18 neuroblastoma cells, results in behavioral recovery in hemiparkinsonian mice. <i>Neurochemistry International</i> 2012 Jan 14. [Epub ahead of print]</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 12 件</p>	<p>専門家向け 計 11 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 入江智彦、松崎泰教、高山清彦、関野祐子、平井宏和 Kv3.3 チャネルのミスセンス変異は小脳プルキンエ細胞の樹状突起発達不全と細胞死を引き起こす <b>第 89 回日本生理学会大会, 松本, 3/29–31/2012</b></li> <li>2. Hirai H. Disruption of climbing fiber synapse elimination and LTD expression in cerebellar Purkinje cells by mutant <math>\gamma</math> PKC found in spinocerebellar ataxia type 14</li> </ol>

	<p><b>Ataxia Investigators Meeting 2012, San Antonio, 3/13-16/2012(招待講演)</b></p> <p>3. Hosoi N, Mitsumura K, Hirai H. Disruption of mGluR-mediated signaling at cerebellar parallel fiber-Purkinje cell synapses in staggerer mutant mice. <b>第2回国際放射線神経生物学会、前橋、12/3/2011</b></p> <p>4. Shuvaev AN, Horiuchi H, Seki T, Gennawan H, Irie T, Iizuka A, Skai N, Hirai H. Mutant <math>\gamma</math> PKC found in spinocerebellar ataxia type 14 disrupts synapse elimination and long-term depression in Purkinje cells in vivo. <b>第2回国際放射線神経生物学会、前橋、12/3/2011</b></p> <p>5. 平井 宏和 ウイルスベクターを用いた小脳疾患の病態解明と治療法開発 <b>徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス (HBS) 研究部 2011 脳科学クラスター・ミニリトリート、淡路、11/5-6/2011(招待講演)</b></p> <p>6. Hirai H. Rescue of developmental defects in mice with cerebellar ataxia using lentiviral vectors. <b>第4回国際小脳学会、東京、9/18/2011</b></p> <p>7. Shuvaev AN, Horiuchi H, Seki T, Gennawan H, Irie T, Iizuka A, Skai N, Hirai H. Mutant <math>\gamma</math> PKC found in spinocerebellar ataxia type 14 disrupts synapse elimination and long-term depression in Purkinje cells in vivo. <b>第34回日本神経科学大会、横浜、9/14-17/2011</b></p> <p>8. Hosoi N, Mitsumura K, Hirai H. Disruption of mGluR-mediated signaling at cerebellar parallel fiber-Purkinje cell synapses in staggerer mutant mice. <b>第34回日本神経科学大会、横浜、9/14-17/2011</b></p> <p>9. Hirai H. Selective defect of metabotropic glutamate receptor signaling at cerebellar parallel fibre-Purkinje cell synapses in staggerer mutant mice. <b>2011 FAOPS Congress, 台北, 9/11-14/2011</b></p> <p>10. Hirai H. Rescue of degenerating neurons in the cerebellum by lentiviral vector-based gene transfer.</p>
--	--

	<p><b>第17回日本遺伝子治療学会年次学術集会, 福岡, 7/15-16/2011</b></p> <p>11. 平井 宏和 血球系細胞と小脳神経細胞選択的 GFP 発現トランスジェニック動物 <b>首都圏北部4大学発 新技術説明会, 東京, 6/1/2011</b></p> <p>一般向け 計1件</p> <p>1. 平井 宏和 脳神経系におけるウイルスベクター研究の進展 —神経難病に対する先端的治療法の確立を目指して— <b>北九州学術研究都市産学連携フェア、北九州、10/19-21/2011(招待講演)</b></p>
<p>図書 計1件</p>	<p><b>Hirai H*, Iizuka A. Chapter 22. Recent developments in gene therapy research targeted to cerebellar disorders. (pp401-422) Gene Therapy Applications (ISBN:978-953-307-541-9). Edited by Chunsheng Kang, Publisher: InTech, Aug 2011. (総ページ数492ページ)</b></p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件 (非公開情報)</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>群馬大学大学院医学系研究科脳神経病態制御学講座神経生理学分野 <a href="http://synapse.dept.med.gunma-u.ac.jp/index.html">http://synapse.dept.med.gunma-u.ac.jp/index.html</a> 群馬大学ホームページ(プレスリリース) 群馬大学   (医学系研究科) 遺伝性脊髄小脳変性症 14 型の病態を解明 <a href="http://www.gunma-u.ac.jp/sb/sb.cgi?eid=281">http://www.gunma-u.ac.jp/sb/sb.cgi?eid=281</a></p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>2011年8月17日 小中学生のための医学研究者・医師・看護師体験教室「医学研究者体験コース」で研究内容について紹介した。(参加者11名) (群馬大学医学部で開催)</p> <p>2011年9月29日 まちなかキャンパス「ここでしか聞けない医学・科学の話」(主催:前橋商工会議所・群馬大学生体調節研究所)で「もうすぐそこまで来ている未来医療:脳の難病は近い将来、こうやって治すようになる!？」のタイトルで研究内容を講演した。(参加者49名) (前橋プラザ元気21で開催) (一般の方対象)</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計5件</p>	<p>“難病発症の仕組み 一部解明 脊髄小脳変性症 群大教授ら、米誌に成果” 読売新聞.(2011年10月6日)</p> <p>“遺伝性脊髄小脳変性症 発症メカニズム解明 群大・平井教授らのグループ” 朝日新聞.(2011年10月6日)</p> <p>“難病の脊髄小脳変性症、発症の仕組み一部解明…群馬”. 読売新聞.(2011年10月6日) <a href="http://www.yomidr.yomiuri.co.jp/page.jsp?id=48269">http://www.yomidr.yomiuri.co.jp/page.jsp?id=48269</a> 2011年10月6日</p> <p>“脊髄小脳変性症の仕組み解明 群馬大” 産経ニュース (2011年10月27日) <a href="http://sankei.jp.msn.com/region/news/111027/gnm11102702380002-n1.htm">http://sankei.jp.msn.com/region/news/111027/gnm11102702380002-n1.htm</a></p> <p>“小脳酵素変異の運動障害解明 群大・平井教授” 上毛新聞ニュース.(2011年10月6日) <a href="http://www.raijin.com/news/a/2011/10/06/news02.htm">http://www.raijin.com/news/a/2011/10/06/news02.htm</a></p>

様式19 別紙1

その他	
-----	--

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の累計)	③当該年度受領額	④(=①-②-③)未受領額	既返還額(前年度迄の累計)
直接経費	127,000,000	57,976,000	0	69,024,000	0
間接経費	38,100,000	17,392,800	0	20,707,200	0
合計	165,100,000	75,368,800	0	89,731,200	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執行額	②当該年度受領額	③当該年度受取利息等額 (未収利息を除く)	④(=①+②+③)当該年度合計収入	⑤当該年度執行額	⑥(=④-⑤)当該年度未執行額	当該年度返還額
直接経費	57,041,000	0	0	57,041,000	57,018,508	22,492	0
間接経費	17,112,300	0	0	17,112,300	17,112,300	0	0
合計	74,153,300	0	0	74,153,300	74,130,808	22,492	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	43,159,899	混合ガス4本、マウス♀6匹、マウス飼料MF
旅費	549,820	日本遺伝子治療学会情報収集
謝金・人件費等	10,193,292	技術補佐員人件費、学生謝金
その他	3,115,497	動物実験施設利用料、神経科学大会参加登録
直接経費計	57,018,508	
間接経費計	17,112,300	
合計	74,130,808	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入年月日	設置研究機関名
フェムトジェット	5247 000.048	1	876,015	876,015	2011.4.25	群馬大学
モノクロカメラ	140万画素 冷却CCD	1	754,110	754,110	2011.12.2	群馬大学
インキュベーター シェーカー・ユニバーサルプラットフォーム	M-1320-0005	1	2,877,000	2,877,000	2011.5.19	群馬大学
高速レーザー共焦点観察システム	GSU-X1SYS-SP8	1	14,962,500	14,962,500	2011.6.22	群馬大学
コモンマーモセット		9	502,250	4,520,250	2011.6.27 7.4	群馬大学
パーティカルロータ・チューブシーラ	P50VT2・STF-2	1	1,764,000	1,764,000	2011.7.14	群馬大学
サーマルサイクラー	C1000	1	807,450	807,450	2011.7.11	群馬大学
データ取得インターフェース・パッチクランプ解析プログラムバージョンアップ	Digidata1440A ・Pclamp 8to10	1	1,050,000	1,050,000	2011.11.16	群馬大学

TALI IMAGE BASED CYTOMETER ・TALI SLIDES- 10 BOX	ライフテクノ ジーズ ジャパン	1	1,559,250	1,559,250	2011.11.10	群馬大学
マルチマイクロ マニピレーター	MPC-385-2	1	2,310,000	2,310,000	2011.12.20	群馬大学
マルチマイクロ マニピレーター	MPC-385-2	1	1,995,000	1,995,000	2012.1.3	群馬大学
実験動物用 吸入麻酔装置	NARCOBIT 酸素ユニット追加	1	569,100	569,100	2012.2.16	群馬大学