

### 1-1-3 神経細胞の再生に関与する分化・誘導の探索

#### <研究概要>

顎・顔面領域の神経再生学的研究を先進的にかつ総合的に推進するには、神経関連細胞の分化・増殖に関与する条件、因子の同定が必要と考える。そこで、ヒト神経膠細胞 (CCF-STTG1) を用い増殖能に対して、脳保護作用が報告されている静脈麻酔薬である、チオペンタールおよびプロポフォールを作用させた。結果、プロポフォールで増殖能抑制効果が示唆され、神経細胞の再生に関しては相反する効果と判断した。なお、アポトーシスを誘発した CCF-STTG1 に対しては、プロポフォールは誘導傾向に、チオペンタールは抑制傾向に作用することも今回示唆された。次に、神経細胞様に分化するラット副腎褐色細胞腫細胞である PC12 細胞を用いて神経突起伸長を促進する条件を探索した。PC12 細胞は、血清存在下で培養すると増殖し、血清非存在下で Nerve Growth Factor (NGF) が存在する環境では突起を伸長して神経細胞様に分化する。また、Fibroblast Growth Factors (bFGF) の存在する環境においても突起を伸長するといわれている。そこで、NGF および bFGF を同時に作用させ、神経突起の伸長に対する影響を確認した。結果、NGF50ng/ml+bFGF 5.0ng/ml 添加群は NGF 50ng/ml 添加群と比較し、24 時間後において 1.26 倍の突起伸長が確認された。また、bFGF 5.0ng/ml 添加では 24 時間以内の突起伸長に大きな影響はなかった。以上より、NGF および bFGF の相加効果が示唆された。現段階では突起伸長に関与する遺伝子の探索までには至っていないが、今回の結果から、NGF 及び bFGF の同時作用は再生医療に有用であった。

#### <得られた知見>

NGF 及び bFGF の相加効果が示唆された点が今回優れた成果と考える。特に、PC12 細胞への NGF50ng/ml+bFGF 5.0ng/ml 添加群は NGF 50ng/ml 添加群と比較し、24 時間後において 1.26 倍の突起伸長が確認された。NGF は PI3 キナーゼ依存的な Rac1 の活性化と MAP キナーゼの関与が知られており、前者は数分以内におこる神経突起形成に関与し、後者は 1 時間以降の神経突起の長い伸長に必要であることがわかっている。BFGF の作用詳細は不明な点が多いが、Rac1 との関与が報告されており、下記、問題点であった 24 時間以降の測定ができれば、相乗効果の可能性も考えられる。また、今後、回収 RNA からゲノムサイエンス先端技術を応用して、突起伸長に関与する遺伝子の探索を行い、新たな関連遺伝子発見の期待が高まっている。