

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

**平成 27 年度～令和元年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」
研究成果報告書概要**

- 1 学校法人名 兵庫医科大学 2 大学名 兵庫医科大学
- 3 研究組織名 脳卒中再生医療研究チーム
- 4 プロジェクト所在地 兵庫県西宮市武庫川町 1-1
- 5 研究プロジェクト名 血管内治療と細胞治療による脳卒中急性期治療の研究拠点形成
- 6 研究観点 研究拠点を形成する研究

7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
吉村 紳一	医学部	教授

- 8 プロジェクト参加研究者数
- 21
- 名

- 9 該当審査区分
- 理工・情報
- 生物・医歯
- 人文・社会

10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
吉村 紳一	医学部・教授	虚血再灌流傷害における幹細胞移植の影響の検討	研究の統括：血管内治療と細胞治療の併用法の確立
松山 知弘	医学部・教授	移植幹細胞の脳梗塞および神経機能に及ぼす影響	幹細胞移植による脳修復作用機序の解明
中込 隆之	医学部・准教授	移植幹細胞と神経幹細胞の相互関係の検討	幹細胞由来神経再生誘導因子の同定
藤盛 好啓	医学部・教授	ヒト幹細胞の特性解析	神経再生に有効な幹細胞の同定
西崎 知之	医学部・教授	幹細胞培地及び抽出物の分子生物学的検討	脱分化シグナル伝達系の解明
後藤 章暢	医学部・教授	幹細胞移植後の神経機能変化の検討	神経機能修復評価基準の設定
相馬 俊裕	医学部・臨床准教授	ヒト幹細胞の抽出・培養	候補幹細胞の品質評価
道免 和久	医学部・教授	幹細胞移植後の神経機能変化の検討	神経機能修復評価基準の設定
玉置 知子	医学部・教授	ヒト培養幹細胞の遺伝子変化の検討	候補幹細胞の安全性評価
久保 秀司	医学部・准教授	ヒト幹細胞発現遺伝子の役割検討	幹細胞誘導因子の同定

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

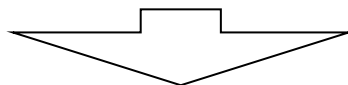
(共同研究機関等)			
-----------	--	--	--

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
幹細胞培地及び抽出物の分子生物学的検討	医学部・教授	西崎 知之	脱分化シグナル伝達系の解明

(変更の時期:平成 27 年 12 月 25 日)



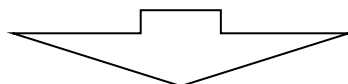
新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
幹細胞と分化細胞の評価法の検討	医学部・教授	後藤 章暢	幹細胞の評価法の確立

(変更の時期:平成 28 年 4 月 1 日)



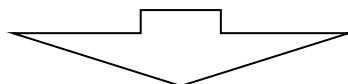
新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
ヒト培養幹細胞の遺伝子変化の検討	医学部・教授	玉置 知子	候補幹細胞の安全性評価

(変更の時期:平成 28 年 3 月 31 日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

(1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

脳血管障害は我が国の死因の上位を占める疾患である。最近では、血管内治療などの急性期治療の進歩によって、後遺症を残さずに回復する症例も見られるようになってきたが、これらの治療が時間的に間に合わなかったり、治療を受けても症例が改善せず、後遺症で苦しむ患者は後を絶たない。従来、このような患者にはリハビリテーション以外に有効な治療法がなかったが、近年は再生医療が注目されている。これは、成体の中枢神経系内にも神経幹細胞が発見され、神経再生機構が働いていることが明らかとなったことによる。しかし、幹細胞移植による神経再生療法の臨床応用に大きな期待が寄せられているものの、これまでの臨床試験では有効性が証明されていないのが現状である。その理由の一つとしては、これまで多くの研究者が、実際の医療現場で応用可能な方法かどうかは関係なく、神経幹細胞を用いた研究を行ってきたことが挙げられる。

本研究ではヒト脂肪幹細胞を中心に、細胞移植による神経再生機構の解明を行うことで、実際の臨床応用に結びつく可能性がある。主任研究者らは、これまで一貫して神経再生および幹細胞移植に関する研究を行ってきた[PNAS 2001; J Clin Invest 2003; Mol Cell Neurosci 2003, J Neurosci Res 2005, Cytotherapy 2011, J Neuroinflammation. 2013]。この中で脂肪組織由来幹細胞(adipose-derived stem cell: ADSC)移植による治療効果に特に注力しており、治療効果のメカニズムとして、移植された幹細胞の分化による再生のみならず、幹細胞からの分泌因子による神経保護や内在性幹細胞の活性化が関与する可能性を示してきた(Brain Res 2012)。またマウス脳梗塞モデルにおいて ADSC の培養上清を濃縮して投与すると、濃度依存的に脳梗塞体積が縮小した。以上から、ヒトへの ADSC 移植の臨床応用に際し、この培養上清を精製して同時投与する発想に至った。

本学先端医学研究所では、以前より動物モデルを用いた神経幹細胞研究が行われており、脳傷害(脳梗塞)病態時に誘導される新たなタイプの神経幹細胞(脳傷害誘導性神経幹細胞、injury induced-Neural Stem/Progenitor Cells: iNSPC)の発見に成功し[Eur J Neurosci 2009]、その細胞の起源が血管周皮細胞(ペリサイト)であること[Stem Cells Dev 2011, 2012]を報告してきた。この幹細胞は ADSC との共通性もあり、ヒトの脳梗塞巣にも誘導される[Eur J Neurosci, 2010]。本プロジェクトでは脳梗塞患者からの抽出培養をおこない(倫理審査委員会承認済)、同一患者に移植する幹細胞還元療法の可能性も検討する。本学では脳梗塞の急性期医療に携わる臨床講座と基礎医学講座が一丸となって研究に取り組んでいることが特色である。脳卒中後の患者に対する細胞移植法を確立し臨床試験を行うことが目標である。

具体的には、ヒト ADSC(hADSC)、ヒト脳傷害誘導性多能性幹細胞(hiSCs)を確立し、その基礎的な性質に関する検討を行った後、臨床応用を目指し動物モデルを用いた有効性の検討およびそのメカニズムに関する基礎研究を進める。また骨髄単核球細胞を用いた臨床試験も並行して進めて行く。

(2) 研究組織

吉村 紳一: 研究の統括

hADSC と iSCs および骨髄単核球細胞のそれぞれの進捗状況を把握し、それぞれの細胞の置かれた段階ごとに必要な評価を把握し、実践に移すように采配する。

松山 知弘: 幹細胞移植による脳修復作用機序の解明

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

主に iSCs による、脳修復機構の評価を中心に研究を進める
 中込 隆之: 幹細胞由来神経再生誘導因子の同定
 主に iSCs の基本的な特性ならびに神経再生の誘導因子の同定を進める。
 藤盛 好啓: 神経再生に有効な幹細胞の同定
 hADSC を中心に、ADSC の細胞特性ならびに臨床応用の際の細胞特性を検討する。
 道免 和久: 神経機能修復評価基準の設定
 骨髄単核球細胞の臨床試験に関する、神経評価基準の設定を行う
 久保 秀司: 幹細胞誘導因子の同定
 hADSC・iSCs における幹細胞誘導因子を検討する

研究者の人数: 21 人

大学院生・PD及びRAの人数: 4 人

研究チーム間の連携状況: 研究責任者を中心に、iSCs に関しては先端医学研究所と、hADSC は輸血・細胞治療学と、骨髄単核球細胞に関してはリハビリテーション医学と定期的なカンファレンスを行っている。

研究支援体制: 臨床研究に関しては、臨床研究支援センターの支援を受けている

(3) 研究施設・設備等

10号館(輸血部細胞調整施設)

自動細胞培養システムにより、ヒト骨髄、脂肪幹細胞を調整し、臨床応用可能な細胞を用いて、作用メカニズムなどを動物実験で検証する。安定した品質の細胞を得るため、また、培養捜査にかかる人件費を節約するため、自動細胞培養装置を用いる。

7号館(動物実験施設)

兵庫医科大学動物実験施設であり、動物実験に必要な施設、器具、環境が整っている。

主に脳神経外科学が動物実験を行う。

9号館(先端医学研究所・共同利用研究施設)

先端医学研究所、共同利用研究施設があり、動物実験、組織培養実験、遺伝子操作実験室を備えている。

先端医学研究所は主に神経再生研究部門が動物実験ならびに細胞培養実験を行う。共同利用研究施設は、脳神経外科、神経再生研究部門、輸血・細胞治療学、および遺伝学の全ての教室が利用し、解析を行っている。

セルプロセッシングセンター

骨髄単核球細胞の臨床試験にて利用する。

(4) 研究成果の概要 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び*を付すこと。

<現在までの進捗状況及び達成度>

①ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞(hADSC)

hADSC においては、ヒト脂肪組織より間葉系幹細胞を分離培養し、その方法を確立した。本研究では、無血清培養による hADSC を確立し、hADSC は将来的な臨床応用の際に十分な細胞量を培養可能であることを確認し、間葉系幹細胞の基準としての細胞表面抗原ならびに骨・軟骨・脂肪への分化能を確認し、間葉系幹細胞の基準を満たすことを確認

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

している。

脳梗塞に対する hADSC の治療応用の検討

* マウス脳梗塞モデルにおいて、脳梗塞誘導後 24 時間での hADSC の静脈内投与により、慢性期の脳梗塞後の神経行動が改善することを示した。そのメカニズムとしては hADSC が炎症反応を制御することにより神経保護作用を発揮することを示している。具体的には組織修復に関わる M2 マクロファージを脳梗塞と正常組織の境界に増加させることで、慢性期の神経機能を改善していた。

脳出血に対する hADSC の治療応用の検討

* マウス脳出血モデルにおいて、脳出血誘導 24 時間後における hADSC の静脈内投与により、慢性期の脳出血による神経学的後遺症が軽減することを示した。またその作用メカニズムについては、急性期のマクロファージの集積を抑制することで、神経学的後遺症を軽減していた。

②羊膜由来間葉系幹細胞 (hAMSC)

脂肪の採取や材料とする際の問題などを鑑み、全く侵襲なく採取可能かつ、間葉系幹細胞を豊富に含む羊膜由来の間葉系幹細胞 (hAMSC) を共同研究者である輸血細胞治療学より提供して頂き、脳卒中モデルに対する有効性を検討した。

・急性期脳梗塞に対する hAMSC の治療応用の検討

脳梗塞誘導後の急性期に hAMSC を静脈内投与すると、脳梗塞後慢性期における神経行動が改善することを示している。その有効性メカニズムについて、免疫反応を中心に解析を行っている。

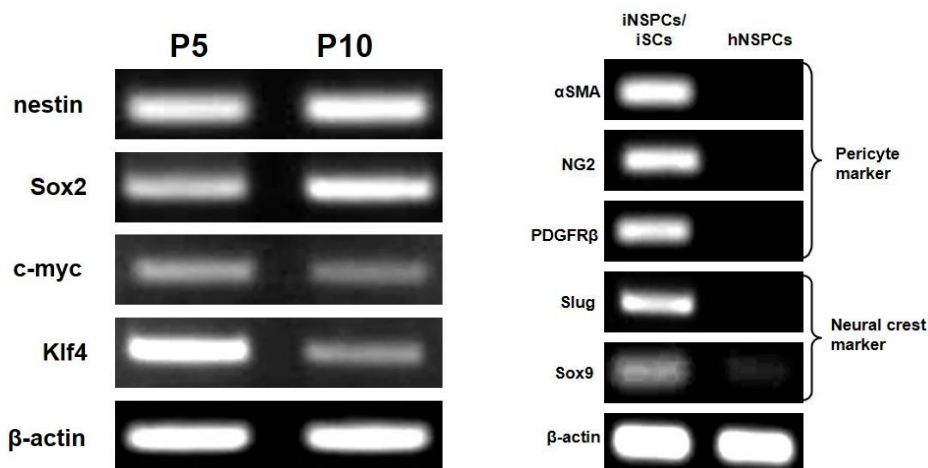
・急性期脳出血に対する hAMSC の治療応用の検討

脳出血誘導後に hAMSC を静脈内投与すると、慢性期における脳出血後の神経行動が改善することを示している。その有効性メカニズムについては、hADSC 同様に免疫制御が中心である。

③ヒト脳傷害誘導性多能性幹細胞 (hiSCs)

1. hiSCs の解析

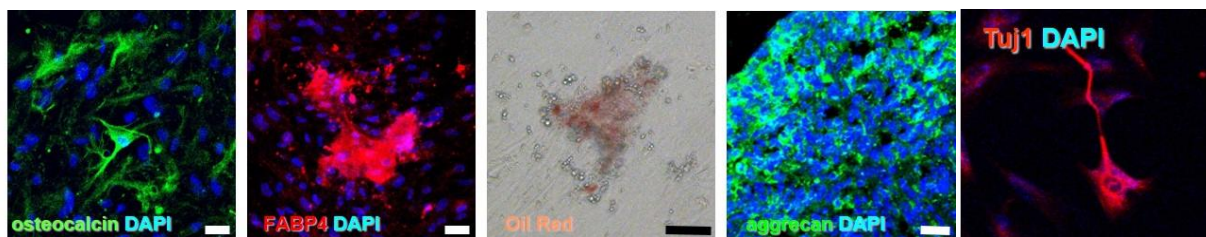
* 6 例の脳梗塞組織より hiSCs を分離確立し、幹細胞マーカーである sox2、c-myc、Klf4 および nestin、ペリサイトマーカーおよび神経堤マーカーの発現を確認した。



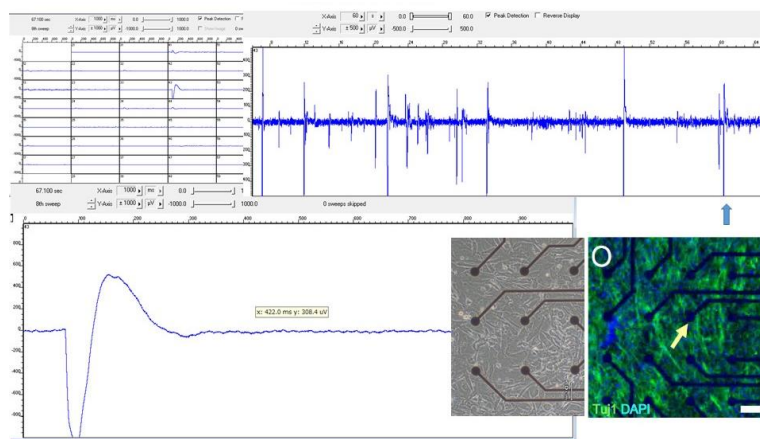
左図は hiSCs を 5 継代・10 継代した際の幹細胞マーカーを PCR にて検討したものである。右図は、hiSCs ならびに ES 細胞由来の神経幹細胞 (hNSPCs) のペリサイトマーカーならびに神経堤マーカーの検討である。

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

* DMEM+EGF+FGF+N2 supplement の通常条件下で接着培養させると、いずれも良好な増殖能を示し、Tuj-1 を発現する神経および骨・軟骨・脂肪への分化を確認した。

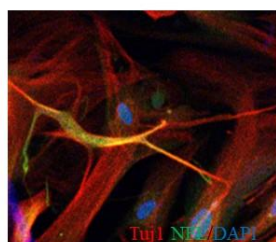
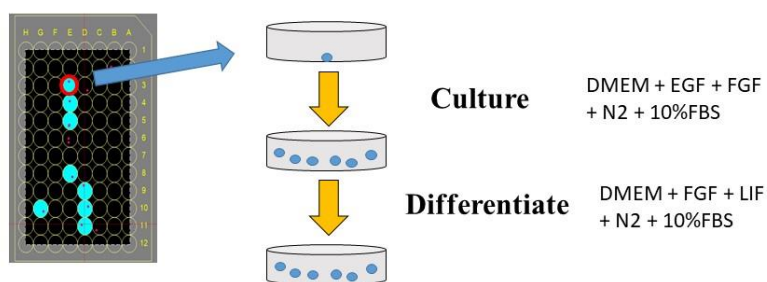


* 接着培養下で hiSCs は Sox2 および Tuj-1 を発現し、電気的活動の有無について解析すると、活動電位を持ち、刺激伝播が可能な電気的活動を持つ神経幹細胞であることを示した。

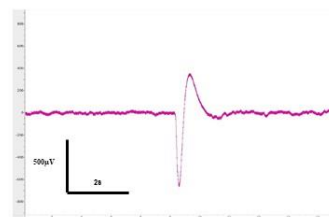


* また hiSCs は 1 つの細胞からも (single cell) からも電気的活動を持つ細胞に分化することを証明した。

ヒト脳由来 iSCs : single cell culture



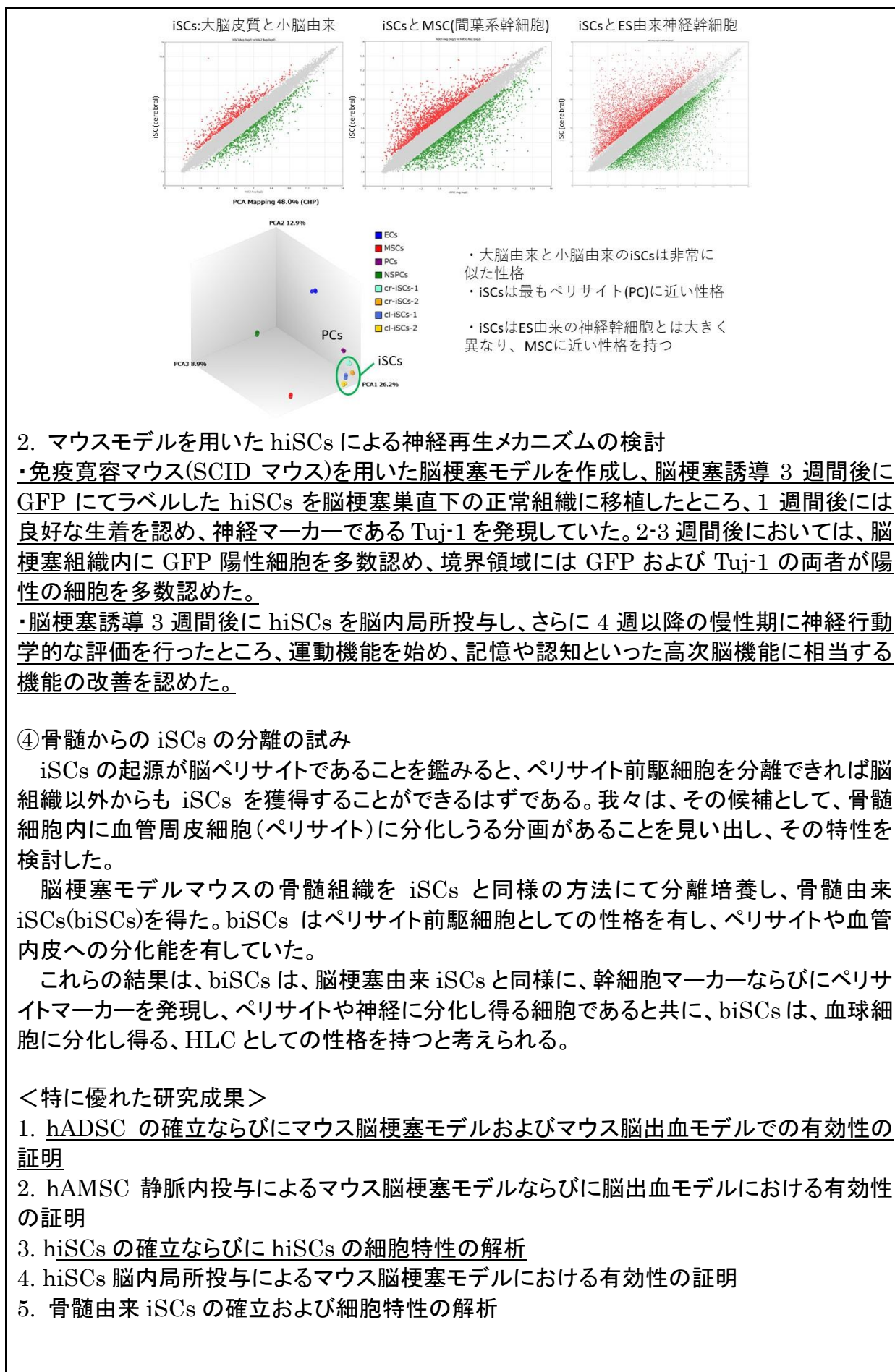
Tuj-1(+), Neurofilament(+)



Action potential (+)

* マイクロアレイによる遺伝子解析においては、主成分解析において、hiSCs は胎児脳由来のペリサイト株に最も近い性格を示しており、大脳由来 hiSCs と小脳由来 hiSCs も非常に近い性格であった。また hiSCs は ES 細胞由来の神経幹細胞より間葉系幹細胞に近い性格を示していた。hiSCs は、アストロサイト株とは大きく異なることも明らかとなった。

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034



2. マウスモデルを用いた hiSCs による神経再生メカニズムの検討

・免疫寛容マウス(SCID マウス)を用いた脳梗塞モデルを作成し、脳梗塞誘導 3 週間後に GFP にてラベルした hiSCs を脳梗塞巣直下の正常組織に移植したところ、1 週間後には良好な生着を認め、神経マーカーである Tuj-1 を発現していた。2-3 週間後においては、脳梗塞組織内に GFP 陽性細胞を多数認め、境界領域には GFP および Tuj-1 の両者が陽性の細胞を多数認めた。

・脳梗塞誘導 3 週間後に hiSCs を脳内局所投与し、さらに 4 週以降の慢性期に神経行動学的な評価を行ったところ、運動機能を始め、記憶や認知といった高次脳機能に相当する機能の改善を認めた。

④ 骨髄からの iSCs の分離の試み

iSCs の起源が脳ペリサイトであることを鑑みると、ペリサイト前駆細胞を分離できれば脳組織以外からも iSCs を獲得することができるはずである。我々は、その候補として、骨髄細胞内に血管周皮細胞(ペリサイト)に分化しうる分画があることを見出し、その特性を検討した。

脳梗塞モデルマウスの骨髄組織を iSCs と同様の方法にて分離培養し、骨髄由来 iSCs(biSCs)を得た。biSCs はペリサイト前駆細胞としての性格を有し、ペリサイトや血管内皮への分化能を有していた。

これらの結果は、biSCs は、脳梗塞由来 iSCs と同様に、幹細胞マーカーならびにペリサイトマーカーを発現し、ペリサイトや神経に分化し得る細胞であると共に、biSCs は、血球細胞に分化し得る、HLC としての性格を持つと考えられる。

<特に優れた研究成果>

1. hADSC の確立ならびにマウス脳梗塞モデルおよびマウス脳出血モデルでの有効性の証明
2. hAMSC 静脈内投与によるマウス脳梗塞モデルならびに脳出血モデルにおける有効性の証明
3. hiSCs の確立ならびに hiSCs の細胞特性の解析
4. hiSCs 脳内局所投与によるマウス脳梗塞モデルにおける有効性の証明
5. 骨髄由来 iSCs の確立および細胞特性の解析

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

<問題点とその克服方法>

hADSC に関しては、臨床応用する際の由来となる脂肪の確保

→脳神経外科だけでなく、腹部の手術を行う外科からの入手経路の模索

hiSCs に関して、臨床応用を目指すためのその有効性メカニズムの検討

→本研究の特長である、多方面からのアプローチを行う事によって、詳細な評価を得る

hiSCs の取得に関する倫理的問題

→その有効性およびメカニズムの解明により、克服する。また hiSCs と同様の細胞を骨髄から得ることが可能であり、骨髄細胞を用いた臨床応用を併せて検討する。

<研究成果の副次的効果(実用化や特許の申請など研究成果の活用の見直しを含む。)>

・hADSC を用いた脳梗塞治療に関しては、特許申請を考慮している。

・hAMSC に関してはすでに臨床応用を視野に入れており、他疾患に対する治験開始後の医師主導治験の準備を開始している。

・hiSCs に関しては、その作成法など、特許申請済である。

・骨髄由来 iSCs は別途、特許申請を予定している。

<今後の研究方針>

hAMSC は臨床応用を目指す研究であり、安全性試験を追加後に、脳卒中を対象に、発症後の神経学的後遺症を軽減する治療の開発として、プロジェクトを進める。

hiSCs は動物モデルでの有効性は証明できている。今後は、更なる有効性メカニズムの検討の追加ならびにその知見を蓄積すると共に、安全性評価の追加によって、倫理的ハードルを越えて臨床応用を目指す。特に本研究では、iSCs が骨髄からも得られることから、脳組織から誘導する iSCs のみではなく、骨髄も視野に入れて臨床応用の道を探す。

<自己評価の実施結果及び対応状況>

研究責任者の属する脳神経外科では、週に一度研究の進捗状況につき自己評価を行い、その都度軌道修正を行い、研究プロジェクトが滞らないように進めている。自己評価の結果、紆余曲折はあるものの、hADSC は着実にその成果が得られている。また後半には、hADSC よりも臨床応用の際の倫理的ハードルの低い hAMSC を用いた脳卒中に対する新たな治療法の検討にも入っており、着実に成果は積み重ねられている。

また hiSCs に関しては、先端医学研究所神経再生研究部門とも原則週に一度、カンファレンスを行い自己評価ならびにその対応を行っている。hiSCs に関しても様々な問題点などに対し、適切な対応により着実に in vitro のみでなく in vivo での研究成果も得られ、すでに論文として発表した成果や、今後他の企業との共同研究に進展する業績が含まれている。

輸血・細胞治療学とは、当初は骨髄単核球細胞に関して定期的に会合を持っていたが、現在では hAMSC の臨床応用を目指すべく、定期的な会合を持ち、自己評価を行っている。またリハビリテーション医学とは、骨髄単核球細胞を始めとして、hAMSC の臨床試験に関して定期的な連絡を取ってきた。今後も治験を含めてより密な連携並びに自己評価を行う事となる。

<外部(第三者)評価の実施結果及び対応状況>

平成 30 年 3 月 12 日、外部委員を含む評価委員会による中間審査を実施した。野口光一学長をはじめ内部審査委員 5 名(外科学・藤元 治朗教授、内科学・西口 修平教授、環境

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

予防医学・若林 一郎教授、解剖学・八木 秀司教授、内科学・芳川 浩男教授)に加え、外部委員として和歌山県立医大先端医学研究所・改正恒康教授が参加した。結果、プロジェクト全体としての研究成果を高く評価して頂き、研究費補助の継続に問題はないとの意見を頂いている。

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- (1) 間葉系幹細胞 (2) 脳梗塞 (3) 幹細胞治療
 (4) 脳傷害誘導性多能性幹細胞 (5) 神経再生 (6) 骨髄単核球細胞
 (7) 臨床研究 (8) _____

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには*を付すこと。

<雑誌論文>

- * Beppu M, Nakagomi T, Takagi T, Nakano-Doi A, Sakuma R, Kuramoto Y, Tatebayashi K, Matsuyama T, Yoshimura S. Isolation and characterization of cerebellum-derived stem cells in post-stroke human brain. *Stem Cells Dev.* 28:528-542, 2019.
- * Tatebayashi K, Takagi T, Fujita M, Doe N, Nakagomi T, Matsuyama T, Yoshimura S. Adipose-derived stem cell therapy inhibits the deterioration of cerebral infarction by altering macrophage kinetics. *Brain Res.* 1712:139-150, 2019.
- * Kuramoto Y, Takagi T, Tatebayashi K, Beppu M, Doe N, Fujita M, Yoshimura S. Intravenous administration of human adipose-derived stem cells ameliorates motor and cognitive function for intracranial hemorrhage mouse model. *Brain Res.* 1711:58-67, 2019.
- * Nakagomi T, Takagi T, Beppu M, Yoshimura S, Matsuyama T. Neural regeneration by regionally induced stem cells within post-stroke brains: Novel therapy perspectives for stroke patients. *World J Stem Cells.* 11(8):452-463, 2019.
- Takagi T, Yoshimura S, Sakai N, Iihara K, Oishi H, Hirohata M, Matsumaru Y, Matsumoto Y, Yamagami H, Menon BK, Almekhlafi M, Holodinsky JK, Kamal N, Hill MD, Goyal M. Distribution and current problems of acute endovascular therapy for large artery occlusion from a two-year national survey in Japan. *Int J Stroke.* [Epub ahead of print].
- * Sakuma R, Takahashi A, Nakano-Doi A, Sawada R, Kamachi S, Beppu M, Takagi T, Yoshimura S, Matsuyama T, Nakagomi T. Comparative characterization of ischemia-induced brain multipotent stem cells with mesenchymal stem cells: Similarities and differences. *Stem Cells Dev.* 27:1322-1338, 2018.
- * Tatebayashi K, Tanaka Y, Nakano-Doi A, Sakuma R, Kamachi S, Shirakawa M, Uchida K, Kageyama H, Takagi T, Yoshimura S, Matsuyama T, Nakagomi T. Identification of multipotent stem cells in human brain tissue following stroke. *Stem Cells Dev.* 26(11):787-797, 2017
- * Takagi T, Yoshimura S, Sakuma R, Nakano-Doi A, Matsuyama T, Nakagomi T. Novel regenerative therapies based on regionally induced multipotent stem cells in post-stroke brains: their origin, characterization, and perspective. *Transl.*

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

Stroke Res. 8:515–528, 2017

9. Yamazaki H, Takahashi A, Sakuma R, Nakano-Doi A, Nakagomi T, Sano H, Matsuyama T. Effect of ADSC-CM on Endogenous Neural Stem Cells Generated after Cerebral Infarction in Mice, Acta Medica Hyogoensia, 42, 91-99, 2017.

10. Nakata M, Nakagomi T, Maeda M, Momota Y, Matsuyama T. Induction of perivascular neural stem cells and possible contribution to neurogenesis following brain ischemia/reperfusion injury, Translational Stroke Research, 8, 131–143, 2017.

11. Takagi T, Yoshimura S, Uchida K, Shirakawa M, Yamada K, Tatebayashi K. The Current Status of Endovascular Thrombectomy for Acute Ischemic Stroke in Japan: Results of a Nationwide Questionnaire Survey in 2016. JNET 11: 504–511, 2016

12. Sakuma R, Kawahara M, Nakano-Doi A, Takahashi A, Tanaka Y, Narita A, Kuwahara-Otani S, Hayakawa T, Yagi H, Matsuyama T, Nakagomi T. Brain pericytes serve as microglia-generating multipotent vascular stem cells following ischemic stroke. Journal of Neuroinflammation, 13, 57, 2016.

13. Nakano-Doi A, Nakagomi T, Sakuma R, Takahashi A, Tanaka Y, Kawamura M, Matsuyama T. Expression patterns and phenotypic changes regarding stemness in brain pericytes in health and disease, Journal of stem cell research & therapy, 6, 3, 2016.

14. Nakagomi T, Nakano-Doi A, Narita A, Matsuyama T. Concise Review: Are Stimulated Somatic Cells Truly Reprogrammed into ES/iPS-like Pluripotent State? Better Understanding by Ischemia-induced Multipotent Stem Cells in a Mouse Model of Cerebral Infarction. Stem Cells International, Volume 2015, Article ID 630693, 2015.

15. Nakagomi T, Kubo S, Nakano-Doi A, Sakuma R, Lu S, Narita A, Kawahara M, Taguchi A, Matsuyama T. Brain Vascular Pericytes following Ischemia have Multipotential Stem Cell Activity to Differentiate into Neural and Vascular Lineage Cells. Stem Cells, 33, 1962-1974, 2015.

16. Nakagomi T, Nakano-Doi A, Matsuyama T. Leptomeninges: a novel stem cell niche harboring ischemia-induced neural progenitors, Histology and Histopathology, 30, 391-399, 2015.

17. Nakagomi T, Nakano-Doi A, Kawamura M, Matsuyama T. Do Vascular Pericytes Contribute to Neurovasculogenesis in the CNS as Multipotent Vascular Stem Cells? Stem Cells and Development, 24, 1730-1739, 2015.

18. 高木俊範、吉村紳一. 脳梗塞の予後改善を目指した血栓回収療法の普及と神経再生療法の可能性: RESCUE-Japan Project とヒト脳傷害誘導性多能性幹細胞を用いた神経再生. 脳循環代謝. 30(1): 53-58, 2018.

19. 吉村紳一, 内田和孝, 高木俊範, 山田清文, 白川学, 立林洸太郎. 急性期脳梗塞の予後改善を目指した先進的多角アプローチ. 脳循環代謝. 30(1): 17-22, 2018.

20. 中込隆之. 脳由来虚血誘導性多能性幹細胞. 日本脳循環代謝学会機関誌、26、203-206、2015.

21. 松山知弘、中込隆之. 脳ペリサイトをめぐる保護と再生、日本脳循環代謝学会機関誌、26、145-149、2015.

<図書>

1. 松山知弘、中込隆之、高木俊範、吉村紳一. 虚血誘導性多能性幹細胞とその臨床応用の展開. 分子脳血管病. 17, p.21-25, 2018.

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

2. 高木俊範、吉村紳一、中込隆之、松山知弘. 傷害誘導性神経・多能性幹細胞. *Clinical Neuroscience* 36(3), p.346-350, 2018.
3. 中込隆之、佐久間理香、松山知弘. ニューロサイエンスの最新情報 脳虚血時の血管周皮細胞(ペリサイト)の役割. *Clinical Neuroscience—細胞移植と神経再生—*. 中外医学社、Vol. 34 No. 10、1174-1175、2016.
4. 松山知弘、中込隆之、高木俊範、吉村紳一. 血行再建療法時代の脳保護療法と再生医療: 虚血誘導性多能性幹細胞とその臨床応用への展開、分子脳血管病、vol. 17、No.1、21-25、2018.
5. 高木俊範、吉村紳一、中込隆之、松山知弘. 神経筋細胞による研究: 傷害誘導性神経・多能性幹細胞、*Clinical Neuroscience*. 中外医学社、Vol. 36、No. 3、346-350、2018.
6. 中込隆之、佐久間理香、松山知弘. ニューロサイエンスの最新情報 脳虚血時の血管周皮細胞(ペリサイト)の役割、*Clinical Neuroscience—細胞移植と神経再生—*. 中外医学社、Vol. 34 No. 10、1174-1175、2016.

<学会発表>

1. Mikiya Beppu, Takayuki Nakagomi, Toshinori Takagi, Akiko Nakano-Doi, Rika Sakuma, Yoji Kuramoto, Kotaro Tatebayashi, Tomohiro Matsuyama, Shinichi Yoshimura. Potential of Cerebellum-derived Stem Cells in Human Brain to Regenerate Functional Neurons Following Ischemic Stroke International Stroke Conference 2019, Honolulu, 2019.
2. Toshinori Takagi, Mikiya Beppu, Kotaro Tatebayashi, Yoji Kuramoto, Saujanya Rajbhandari, Akiko Nakano-Doi, Rika Sakuma, Takayuki Nakagomi, Tomohiro Matsuyama, and Shinichi Yoshimura. Basic characteristics of injury-induced multipotent stem cells in human brains and future prospects. 2nd international and 7th Annual Conference of Nepalese Society of Neurosurgeons (INCONESON 2019) Kathmandu, Nepal, 2019.
3. Takagi T, Beppu M, Tatebayashi K, Kuramoto Y, Nakano-Doi A, Sakuma R, Nakagomi T, Matsuyama T, Yoshimura S. Basic characteristics of injury-induced multipotent stem cells in human brains and future prospects. ISSCR 2018, Melbourne, 2018.
4. Takagi T, Tatebayashi K, Beppu M, Kuramoto Y, Nakano-Doi A, Sakuma R, Nakagomi T, Matsuyama T, Yoshimura S. Injury-induced multipotent stem cells; characteristics and future perspective for stroke patients. TERMIS 2018, Kyoto, 2018.
5. Tatebayashi K., Takagi T., Nakano-Doi A., Sakuma R., Tanaka, Y., Kamachi S, Shirakawa M., Uchida K., Kageyama H., Nakagomi T., Matsuyama T, and Yoshimura S. Ischemia-induced Multipotent Stem Cells in Human Cerebral Infarction. ISC 2018, LosAngeles, 2018.
6. 高木俊範、立林洸太郎、別府幹也、蔵本要二、吉村紳一、土居亜紀子、佐久間理香、中込隆之、松山知弘. ヒト脳傷害誘導性多能性幹細胞の性状とその特徴. 第 17 回日本再生医療学会総会, 2018.

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

7. Takagi Toshinori, Alexander Mitropoulos. Tissue engineered scaffold of stem cells for treatment of cerebral infarction. Interstellar Initiative, New York Academy of Science, NY, 2017
8. Takagi Toshinori, Injury-induced multipotent stem cells for treatment of cerebral infarction. Satellite Interstellar Initiative, Biopolis, Singapore, 2017
9. 高木俊範、立林洸太郎、別府幹也、蔵本要二、中込隆之、松山知弘、吉村紳一。ヒト脳梗塞巣における脳傷害誘導性幹細胞の確立。第 18 回日本分子脳神経外科学会。甲府 2017
10. 松山知弘、中込隆之。ペリサイトの起源と脳組織再生への関与、(シンポジウム)第 60 回日本脳循環代謝学会、大阪、2017.
11. 湊雄介、高橋愛、加藤歩、大谷佐知、田中宏一、前田誠司、中込隆之、松山知弘、八木秀司。Analysis of the characterization of ischemic pericyte、第 40 回神経科学大会、千葉、2017.
12. 澤田里佳子、佐久間理香、土居亜紀子、高橋愛、蒲地紗英子、中込隆之、松山知弘。Brain endogenous multipotent stem cells following ischemia express CD44 and differentiate into oligodendrocytes、第 40 回神経科学大会、千葉、2017.
13. 立林洸太郎、高木俊範、土居亜紀子、佐久間理香、田中康江、白川学、影山博人、内田和孝、蒲地紗栄子、中込隆之、松山知弘。ヒト脳梗塞組織における多能性幹細胞の同定、第 60 回日本脳循環代謝学会、大阪、2017.
14. 澤田里佳子、松山知弘、中込隆之、土居亜紀子、佐久間理香、蒲地紗栄子、高橋愛。脳梗塞後の CD44 の局在と傷害誘導性多能性幹細胞の分化、第 60 回日本脳循環代謝学会、大阪、2017.
15. 松山知弘、中込隆之。内在性神経幹細胞による脳梗塞の再生医療：脳梗塞の創薬と次世代医療、(シンポジウム)第 57 回日本神経学会学術大会、兵庫、2016
16. 土居亜紀子、中込隆之、佐久間理香、高橋愛、田中康恵、川村美貴、松山知弘。虚血ペリサイトの発生学的見地から見た特性の検討、(シンポジウム)第 59 回日本脳循環代謝学会学術集会、徳島、2016.
17. 高橋愛、中込隆之、土居亜紀子、佐久間理香、澤田里佳子、松山知弘。脳ペリサイト由来多能性幹細胞、間葉系幹細胞、脂肪組織由来幹細胞の特性に関する比較検討、第 59 回日本脳循環代謝学会学術集会、徳島、2016.
18. 中田雅代、中込隆之、前田光代、土居亜紀子、百田義弘、松山知弘。神経再生療法は脳虚血再灌流病態時でも可能か、第 59 回日本脳循環代謝学会学術集会、徳島、2016.
19. 覚道知樹、岸本直隆、土居亜紀子、中込隆之、百田義弘、松山知弘。脱分化脂肪細胞の神経系分化とマウス脳梗塞モデルへの細胞移植による脳分布、第 59 回日本脳循環代謝学会学術集会、徳島、2016.
20. 佐久間理香、河原麻衣子、土居亜紀子、高橋愛、田中康江、成田彩、大谷佐知、早川徹、八木秀司、松山知弘、中込隆之。PDGFR β -expressing brain pericytes following ischemia acquire microglia-generating multipotent stem cell activity、第 39 回神経科学大会、神奈川、2016.
21. 松山知弘、中込隆之、土居亜紀子、河原麻衣子、佐久間理香。A role of immune cells on brain repair、(シンポジウム)第 120 回日本解剖学会、第 92 回日本生理学会大会、兵庫、2015.
22. 松山知弘、中田雅代、百田義弘、中込隆之。神経組織再生による脳卒中の新規治療一過性虚血負荷後のペリサイトからの神経再生、(シンポジウム)第 27 回日本脳循環代謝学会総会、富山、2015.

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

23. 山崎博充、河原麻衣子、佐久間理香、土居亜紀子、中込隆之、菅野武史、松山知弘、西崎知之. Neurogenerative effects of conditioned medium of adipose derived stem cell (ADSC-CM) on cerebral infarction in mice、第 120 回日本解剖学会、第 92 回日本生理学会大会、兵庫、2015.
24. 山崎博充、河原麻衣子、佐久間理香、中野亜紀子、中込隆之、西崎知之、松山知弘. 脳梗塞マウスモデルにおける脂肪組織由来間葉系幹細胞培養上清 (ADSC-CM) による神経再生効果の検討、第 40 回日本脳卒中学会総会、広島、2015.
25. 中込隆之、土居亜紀子、佐久間理香、成田彩、田中康江、中田雅代、久保秀司、松山知弘. Brain pericytes following ischemia acquire neural phenotypes in a mesenchymal epithelial transition-like manner、第 38 回神経科学大会、兵庫、2015.

<研究成果の公開状況> (上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等

<既に実施しているもの>

兵庫医科大学ホームページに iSCs に関する情報を公開

http://www.hyo-med.ac.jp/news/backnumber/backnumber_2016/20161114_1.html

<これから実施する予定のもの>

臨床研究などが開始出来れば、その都度実施する

14 その他の研究成果等

特になし

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

<「選定時」に付された留意事項>

基礎研究と臨床応用の連携強化に留意し、若手研究者の育成、研究成果の公開、および外部評価の適切な導入を心がけて戴きたい。

<「選定時」に付された留意事項への対応>

基礎研究と臨床応用の連携強化に関しては、脳神経外科学と神経再生研究部門が密に連携し、臨床応用を視野に入れた基礎研究の推進を行っている。

若手研究者の育成に関しては、ポスドクターとして佐久間理香を採用し、すでに英文の論文を発表している。また脳神経外科からも大学院生 3 名が本プロジェクトに関わり、1 名はすでに英語論文を発表し、残り 2 人も準備を進めている段階であり、若手育成にも役立っている。

<「中間評価時」に付された留意事項>

中間評価では特に留意事項は付されていない

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

特に留意事項が無く、対応不要

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

16 施設・装置・設備・研究費の支出状況(実績概要)

(千円)

年度・区分	支出額	内 記						備考
		法人負担	私学助成	共同研究機関負担	受託研究等	寄付金	その他(教員研究費等)	
平成27年度	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	9,999	3,827	6,172	0	0	0	0
	研究費	31,992	16,992	15,000	0	0	0	0
平成28年度	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	0	0	0	0	0	0	0
	研究費	27,807	10,995	12,500	0	0	1,000	3,312
平成29年度	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	0	0	0	0	0	0	0
	研究費	28,055	10,993	12,500	0	0	1,500	3,062
平成30年度	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	0	0	0	0	0	0	0
	研究費	27,607	7,042	12,500	0	0	4,186	3,879
平成31年度	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	0	0	0	0	0	0	0
	研究費	24,000	5,000	12,000	0	0	3,690	3,310
総額	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	9,999	3,827	6,172	0	0	0	0
	研究費	139,461	51,022	64,500	0	0	10,376	13,563
総計	149,460	54,849	70,672	0	0	10,376	13,563	

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

17 施設・装置・設備の整備状況 (私学助成を受けたものはすべて記載してください。)

《施設》(私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。) (千円)

施設の名 称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
10号館(輸血部細胞調整施設)		50 m ²					
7号館(動物実験施設)		1,418 m ²					
9号館(先端医学研究所・共同利用研究施設)		2,116 m ²					
CPC	平成27	30 m ²	2	8	9,999	6,172	私学助成

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

0 m²

《装置・設備》(私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。)

(千円)

装置・設備の名称	整備年度	型 番	台 数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)				h			
				h			
				h			
				h			
				h			
(研究設備)	平成27		1式	43,800 h	9,999	6,172	私学助成
CPC環境及び機器モニタリングシステム				h			
				h			
				h			
				h			
(情報処理関係設備)				h			
				h			
				h			
				h			

18 研究費の支出状況

(千円)

年 度	平成 27 年度	積 算 内 訳		
小 科 目	支 出 額	主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費	10,043	基礎研究、動物実験	10,043	試薬、実験用器具、抗体等
光熱水費	0		0	
通信運搬費	0		0	
印刷製本費	0		0	
旅費交通費	0		0	
報酬・委託料	0		0	
(その他)	324	臨床研究	324	臨床的研究契約書の負担金(XR-E000065):トヨタ自動車
計	10,367			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	2,217	実験補助	2,217	時給:1,000円 年間時間:432.5時間 3名、時給:1,050円 年間時間:102.5時間 1名 時給:1,350円 年間時間:594時間 1名、時給:1,400円 年間時間:619.5時間 2名
教育研究経費支出	0		0	
計	2,217			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	19,408	研究機器	19,408	バイオハザード対策用キャビネット、冷却遠心機、倒立顕微鏡、インキュベーター等
図 書	0		0	
計	19,408			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0		0	
ポスト・ドクター	0		0	
研究支援推進経費	0		0	
計	0			

(様式2)

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

(千円)

年 度	平成 28 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	9,456	基礎研究	9,456	試薬、実験用器具、抗体等
光 熱 水 費	0		0	
通 信 運 搬 費	0		0	
印 刷 製 本 費	0		0	
旅 費 交 通 費	168	研究旅費	168	海外学会参加(ESGCT2016)
報 酬・委 託 料	667	臨床研究	667	再生医療EDCシステム作成 第1期
(その他)	130	動物実験他	130	実験器具部品交換及び調整作業、動物実験施設使用料等
計	10,421			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人 件 費 支 出 (兼務職員)	2,264	実験補助	2,264	時給:1,200円 年間時間:213.5時間 1名 時給:1,400円 年間時間:1,340.5時間 3名
教育研究経費支出	0		0	
計	2,264			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	11,310	研究機器	1,130	蛍光顕微鏡、マイクロプレートリーダー、足関節運動テスト等
図 書	0		0	
計	11,310			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0		0	
ポスト・ドクター	3,812		3,812	学内1人
研究支援推進経費	0		0	
計	3,812			

(千円)

年 度	平成 29 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	8,753	基礎研究	8,753	試薬、実験用器具、抗体等
光 熱 水 費	0		0	
通 信 運 搬 費	0		0	
印 刷 製 本 費	0		0	
旅 費 交 通 費	1		1	
報 酬・委 託 料	2,532	臨床研究	2,532	再生医療 EDCシステム作成 第2期、タカラバイオ解析受託等
(その他)	627	細胞を用いた臨床研究	627	認定再生医療等委員会審査料等
計	11,913			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人 件 費 支 出 (兼務職員)	3,213	実験補助	3,213	時給:1,000円 年間時間:323時間 1名、時給:1,200円 年間時間:1,325.5時間 1名 時給:1,400円 年間時間:610時間 1名
教育研究経費支出	0		0	
計	3,213			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	8,867	研究機器	8,867	フローサイトメーター、MEA2100-Liteヘッドステージ/シングル60、手術用顕微鏡、他
図 書	0		0	
計	8,867			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0		0	
ポスト・ドクター	4,062		4,062	学内1人
研究支援推進経費	0		0	
計	4,062			

(様式2)

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1511034

(千円)

年 度	平成 30 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	11,246	消耗品費、試薬品費	11,246	試薬、マウス、実験器具
光 熱 水 費	0		0	
通 信 運 搬 費	0		0	
印 刷 製 本 費	0		0	
旅 費 交 通 費	99	研究旅費	99	学会参加旅費
報 酬 ・ 委 託 料 (その他)	5,576	業務委託費	5,576	マウス病理標本作成、GneChip Expression Array解析、マウス行動実験
	0		0	
計	16,921			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人 件 費 支 出 (兼務職員)	1,015	実験補助	1,015	時給:1,400円 年間時間:724時間 1名
教 育 研 究 経 費 支 出	0		0	
計	1,015			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教 育 研 究 用 機 器 備 品	6,011	研究機器	6,011	超低温フリーザー、血漿融解装置、SEBRON血液用ミニチューブシーラー、他
図 書	10	図書	10	図書
計	6,021			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0		0	
ポスト・ドクター	3,650		3,650	学内1人(平成31年4月1日より助教(他学))
研究支援推進経費	0		0	
計	3,650			

(千円)

年 度	平成 31 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	8,698	消耗品費、試薬品費	8,698	試薬、マウス、実験器具
光 熱 水 費	0		0	
通 信 運 搬 費	0		0	
印 刷 製 本 費	0		0	
旅 費 交 通 費	0		0	
報 酬 ・ 委 託 料 (その他)	2,153	業務委託費	2,153	マウス病理標本作成、GneChip Expression Array解析、メンテナンス費
	96	諸会費、雑費	95	学会参加費、外国送金手数料
計	10,947			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人 件 費 支 出 (兼務職員)	826	実験補助	826	時給:1,400円 年間時間:589時間 1名
教 育 研 究 経 費 支 出				
計	826			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教 育 研 究 用 機 器 備 品	12,227	研究機器	12,226	マウス用トレッドミル、キネマトレーサ用カメラ、無菌接合装置、他
図 書				
計	12,227			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0		0	
ポスト・ドクター	0		0	
研究支援推進経費	0		0	
計	0			