

東京大学大学院医学系研究科 教授

桐野 高明

「遅発性神経細胞死の分子機構」

## 1. 研究実施の概要

### (目的)

遅発性神経細胞死 (delayed neuronal death) とはごく短時間の脳虚血の後に海馬 CA1 錘体細胞に発生する神経細胞の死であり、その過程にはきわめて興味深い特徴がある。短時間の虚血 (齧歯類を用いた実験モデルでは 3-10 分) の後、神経細胞はほぼ完全に元の状態に回復する。脳血流・エネルギー (ATP) 代謝・グルコース代謝などの代謝パラメータも復旧する。形態学的に見ても、細胞死を示す所見は少なくとも虚血の 24 時間後までは認めない。神経細胞は正常の膜電位を保持して電気的な活動も示す。ストレス蛋白 (hsp70, ubiquitin) などの mRNA の発現も認める。しかし mRNA から蛋白への翻訳は強く抑制される。虚血から 3-4 日経過すると、海馬 CA1 錘体細胞の大部分は死んで消滅する。海馬 CA1 領域の神経細胞がきわめて緩やかに、かつ再現性高く細胞死に陥るので、虚血性神経細胞死の代表的なモデル系の一つとして、世界的にこの現象を対象とする研究がなされてきている。海馬遅発性神経細胞死は受動的破壊による細胞死とは異なる。その上流では神経細胞特有の機構による細胞死の決定機構が働き、その間は神経細胞は可逆性で治療可能であり、最終的にアポトーシス共通の経路に達すると不可逆的に進行すると考えられる。アポトーシスの上流での神経細胞特有の分子機構、特に calcineurin および proteasome による細胞死制御の分子機構を解明し、治療可能域を同定することが研究のねらいである。

### (実施概要)

#### I. 遅発性神経細胞死の分子機構の解明に関する研究

- ① 神経細胞において calcineurin を高レベル発現させると種々の刺激に対して vulnerability が増大し、通常アポトーシスをおこさないような刺激によっても容易にアポトーシスをおこすようになることを見出した。また、calcineurin を強制発現させるとそれだけでアポトーシスが誘導されることが明らかになった。また、これらは FK506 および cyclosporin A などの calcineurin 阻害剤で抑制されることも明らかになった。また、in vivo においても海馬遅発性神経細胞死が FK506 によって抑制されることを明らかにした。
- ② 神経細胞において proteasome 阻害剤を用いて proteasome 機能を阻害するとミトコンドリア・カスパーゼ依存性のアポトーシスが誘導されることを明らかにした。また、海馬 CA1 領域において、一過性前脳虚血後の遅発性神経細胞死に先駆けて同部の free ubiquitin が減少し conjugated ubiquitin が蓄積することを見出した。さらに、一過性前脳虚血後、前脳全域で一過性にプロテアソーム機能 (26S 機能) が低下するが、海馬 CA1 領域ではこれが低下したまま回復せず遅発性神経細胞死にいたることを明らかにした。また、これが分子レベルで 20S から 26S への再会合の障害によるものであることを明らかにした。
- ③ 神経細胞において calcineurin を高発現させて誘導される神経細胞死に p53 のリン酸化が必須であることを明らかにした。
- ④ マウス総頸動脈および脳底動脈を 14 分間遮断することにより遅発性神経細胞死を効率

よく再現することに成功した。

- ⑤ 神経細胞における proteasome 機能阻害によるアポトーシスにおいて p53 が必須であることを明らかにした。また、p53 ノックアウトマウスでは p53 野生型マウスに比して一過性全脳虚血後の遅発性神経細胞死が有意に抑制されることを明らかにした。
- ⑥ (口野グループ) c-Myc により小胞体ストレスによるアポトーシスが 5~10 倍増強され、そのためには c-Myc の N 末および C 末領域に存在する機能ドメインが必須であることを見出した。また、その機序が c-Myc による Bax の活性化増強であることを明らかにした。また、神経芽腫で認められる腫瘍の自然消退現象が、H-ras/PI3K を介した non-apoptotic なプログラム細胞死によるものであることを明らかにした。
- ⑦ (森川グループ) グルタミン酸レセプターイプシロン 1 のノックアウトマウスでは野生型あるいはグルタミン酸レセプターイプシロン 2 のノックアウトに比して有意に局所脳虚血による梗塞巣が縮小することを示し、虚血による神経細胞死にグルタミン酸レセプターイプシロン 1 が関与していることを明らかにした。また、永久局所脳虚血による梗塞巣は虚血後 7 日目まで徐々に拡大するが、この拡大に S-100 $\beta$  タンパク質が関与しており、S-100 $\beta$  の阻害剤によって梗塞巣が有意に縮小することを明らかにした。
- ⑧ (渡邊グループ) 胎児網膜神経細胞の発生過程に糖担体輸送分子 isoform である GLUT1~3 が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

## II. 遅発性神経細胞死の治療に向けた研究

- ① (濱田グループ) アデノウイルスベクターを用いて種々の細胞への遺伝子導入を試みたところ、in vitro では神経細胞も含めて、様々な細胞で高い遺伝子導入効率が観察できた。しかし、in vivo では脳への遺伝子導入効率はあまり高くなかった。また、Protein Transduction Domains (PTD) 融合タンパク質として TAT、VP22 を使用した融合タンパク質とタンパク質導入試薬 BioPorter<sup>TM</sup>、Chariot<sup>TM</sup> を用いて、培養細胞へのタンパク質導入効果を検討した。TAT 融合タンパク質の導入効率は悪く、VP22 融合タンパク質は導入効率がよかった。BioPorter<sup>TM</sup>、Chariot<sup>TM</sup> は導入効率良好であった。

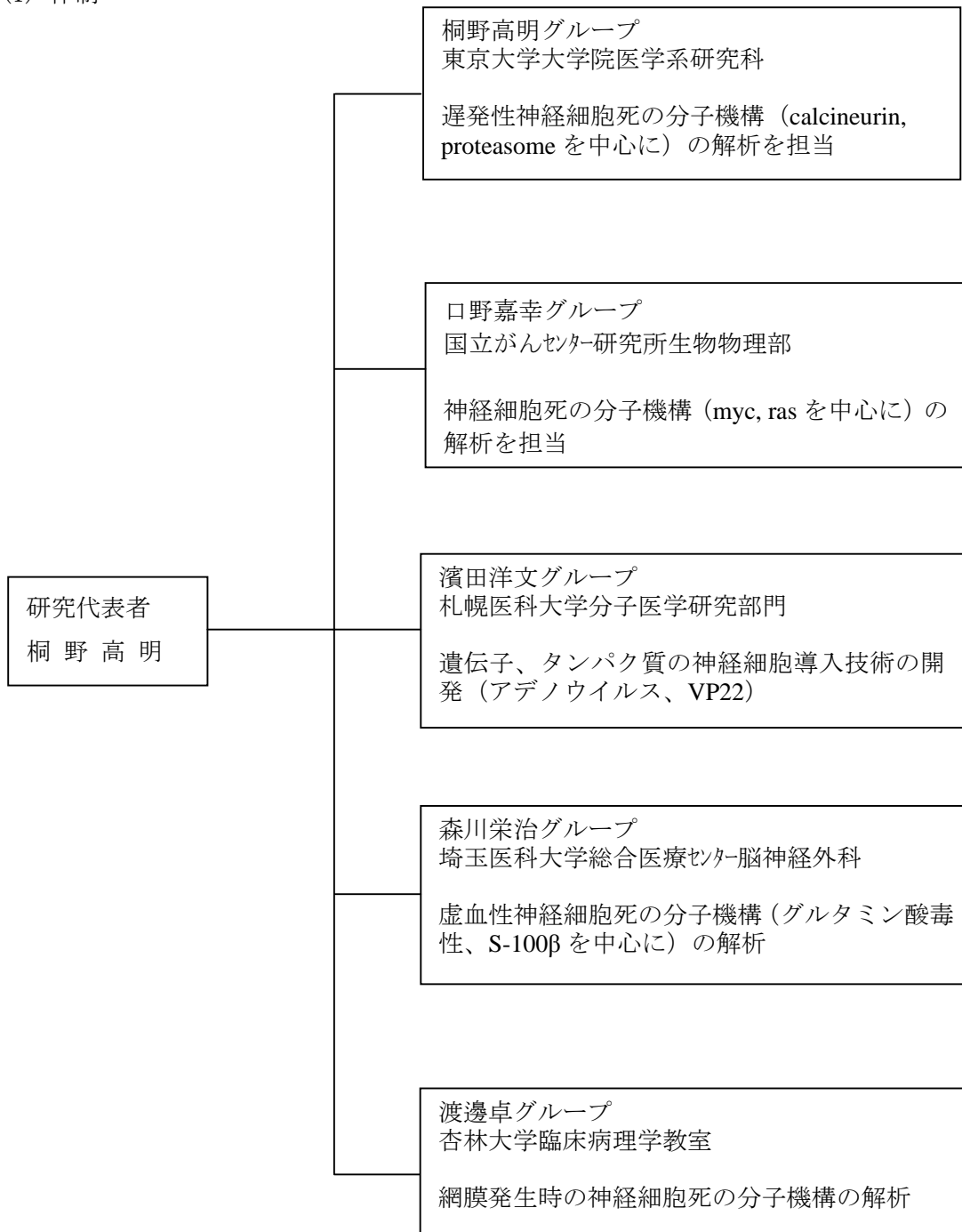
## 2. 研究構想

当初、遅発性神経細胞死の分子機序を解明して、その知見に基づいて遅発性神経細胞死の進行をブロックして神経細胞あるいは脳を保護する方法を開発するという構想を立てた。桐野グループはそれまでの研究成果から calcineurin、proteasome、caspase-3 の 3 分子を切り口にして遅発性神経細胞死の分子機序解明を進めることとした。また、口野グループは c-myc、ras、ER stress の 3 項目を切り口にして、神経細胞死の分子機序の解明を進めることとした。渡邊グループは遅発性神経細胞死と類似性を有する胎児期網膜における網膜神経細胞死の機序解明を進めることとした。森川グループはマウスにおける遅発性神経細胞死モデルおよび局所脳虚血による脳梗塞モデルの作製と確立をめざした。濱田グループは、

脳の保護に向けた研究として遅発性神経細胞死から脳を保護する分子を神経内あるいは脳内に導入する方法を開発する研究を進めることにした。

### 3. 研究実施体制

#### (1) 体制



#### 4. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

なし

#### 5. 主な研究成果

(1) 論文発表（国内 0件、海外 65件）

1. Mishima K, Higashiyama S, Asai A, Yamaoka K, Nagashima Y, Taniguchi N, Kitanaka C, Kirino T, Kuchino Y.: Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor stimulates mitogenic signaling and is highly expressed in human malignant gliomas. *Acta Neuropathol (Berl)*. 96:322-328, (1998)
2. Nishiyama M, Okamoto H, Watanabe T, Hori T, Sasaki T, Kirino T, Shimizu T.: Endothelium is required for 12-hydroperoxyeicosatetraenoic acid-induced vasoconstriction. *Eur J Pharmacol*. 341:57-63, (1998)
3. Todo T, Kondo T, Nakamura S, Kirino T, Kurokawa T, Ikeda K.: Neuronal localization of fibroblast growth factor-9 immunoreactivity in human and rat brain. *Brain Res*. 783:179-187. (1998)
4. Todo T, Kondo T, Kirino T, Asai A, Adams EF, Nakamura S, Ikeda K, Kurokawa T.: Expression and growth stimulatory effect of fibroblast growth factor 9 in human brain tumors. *Neurosurgery*. 43:337-346, (1998)
5. Shinoura N, Yoshida Y, Sadata A, Hanada KI, Yamamoto S, Kirino T, Asai A, Hamada H.: Apoptosis by retrovirus-and adenovirus-mediated gene transfer of Fas ligand to glioma cells: implications for gene therapy. *Hum Gene Ther* 9:1983-1993, (1998)
6. Morikawa E, Mori H, Kiyama Y, Mishina M, Asano T, Kirino T.: Attenuation of focal ischemic brain injury in mice deficient in the epsilon1 (NR2A) subunit of NMDA receptor. *J Neurosci* 18:9727-9732, (1998)
7. Shinoura N, Ohashi M, Yoshida Y, Asai A, Kirino T, Saito I, Hamada H.: Construction, propagation, and titer estimation of recombinant adenoviruses carrying proapoptotic genes. *Hum Gene Ther* 9:2683-2689, (1998)
8. Kawahara N, Ide T, Saito N, Kawai K, Kirino T.: Propentofylline potentiates induced ischemic tolerance in gerbil hippocampal neurons via adenosine receptor. *J Cereb Blood Flow Metab* 18:472-475, (1998)
9. Sano T, Asai A, Mishima K, Fujimaki T, Kirino T.: Telomerase activity in 144 brain tumours. *Br J Cancer*. 77:1633-1637, (1998)
10. Shinoura N, Muramatsu Y, Nishimura M, Yoshida Y, Saito A, Yokoyama T, Furukawa T, Horii A, Hashimoto M, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Adenovirus-mediated transfer of p33ING1 with p53 drastically augments apoptosis in gliomas. *Cancer Res* 59:5521-5528, (1999)
11. Watanabe T, Nagamatsu S, Matsushima S, Kondo K, Motobu H, Hirokawa K, Mabuchi K, Kirino T, Uchimura H.: Developmental expression of GLUT2 in the rat retina. *Cell Tissue Res*. 298:217-23, (1999)
12. Kawahara N, Mishima K, Higashiyama S, Taniguchi N, Tamura A, Kirino T.: The gene for heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor is stress-inducible: its role in cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 19:307-320, (1999)

13. Shinoura N, Yoshida Y, Nishimura M, Muramatsu Y, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Expression level of Bcl-2 determines anti-or proapoptotic function. *Cancer Res* 59:4119-4128, (1999)
14. Asai A, Qiu J-h, Narita Y, Chi S, Saito N, Shinoura N, Hamada H, Kuchino Y, Kirino T.: High-level calcineurin activity predisposes neuronal cells to apoptosis. *J Biol Chem* 274:34450-34458, (1999)
15. Shinoura N, Yoshida Y, Tsunoda R, Ohashi M, Zhang W, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Highly augmented cytopathic effect of a fiber-mutant E1B-defective adenovirus for gene therapy of gliomas. *Cancer Res* 59:3411-3416, (1999)
16. Chi S, Kitanaka C, Noguchi K, Mochizuki T, Nagashima Y, Shirouzu M, Fujita H, Yoshida M, Chen W, Asai A, Himeno M, Yokoyama S, Kuchino Y.: Oncogenic Ras triggers cell suicide through the activation of a caspase-independent cell death program in human cancer cells. *Oncogene* 18:2281-2290, (1999)
17. Mochizuki T, Kitanaka C, Noguchi K, Muramatsu T, Asai A, Kuchino Y.: Physical and functional interactions between pim-1 kinase and Cdc25A phosphatase. Implications for the pim-1-mediated activation of the c-myc signaling pathway. *J Biol Chem* 274:18659-18666, (1999)
18. Kim P, Yoshimoto Y, Nakaguchi H, Mori T, Asai A, Sasaki T, Kirino T, Nonomura Y.: Increased sarcolemmal permeability in the cerebral artery during chronic spasm: an assessment using DNA-binding dyes and detection of apoptosis. *J Cereb Blood Flow Metab.* 19:889-897, (1999)
19. Noguchi K, Kitanaka C, Yamana H, Kokubu A, Mochizuki T, Kuchino Y.: Regulation of c-Myc through phosphorylation at Ser-62 and Ser-71 by c-Jun N-terminal kinase. *J Biol Chem.* 274:32580-32587, (1999)
20. Shinoura N, Yoshida Y, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Relative level of expression of Bax and Bcl-XL determines the cellular fate of apoptosis/necrosis induced by the overexpression of Bax. *Oncogene* 18:5703-5713, (1999)
21. Ide T, Takada K, Qiu JH, Saito N, Kawahara N, Asai A, Kirino T.: Ubiquitin stress response in postischemic hippocampal neurons under nontolerant and tolerant conditions. *J Cereb Blood Flow Metab* 19:750-756, (1999)
22. Watanabe T, Nagamatsu S, Matsushima S, Kirino T, Uchimura H.: Colocalization of GLUT3 and choline acetyltransferase immunoreactivity in the rat retina. *Biochem Biophys Res Commun.* 256:505-11, (1999)
23. Ueki K, Wen-Bin C, Narita Y, Asai A, Kirino T.: Tight association of loss of merlin expression with loss of heterozygosity at chromosome 22q in sporadic meningiomas. *Cancer Res.* 59:5995-5998, (1999)
24. Kitanaka C, Kuchino Y.: Caspase-independent programmed cell death with necrotic morphology. *Cell Death Differ.* 6:508-515, (1999)
25. Wenbin C, Asai A, Teramoto A, Sanno N, Kirino T.: Mutations of the MEN1 tumor suppressor gene in sporadic pituitary tumors. *Cancer Lett.* 142:43-47, (1999)
26. Watanabe T, Nagamatsu S, Matsushima S, Kirino T, Uchimura H.: Colocalization of GLUT3 and choline acetyltransferase immunoreactivity in the rat retina. *Biochem Biophys Res Commun.* 256:505-511, (1999)
27. Watanabe T, Nagamatsu S, Matsushima S, Kondo K, Motobu H, Hirosawa K, Mabuchi K,

- Kirino T, Uchimura H.: Developmental expression of GLUT2 in the rat retina. *Cell Tissue Res.* 298:217-223, (1999)
28. Narita Y, Asai A, Kuchino Y, Kirino T.: Actinomycin D and staurosporine, potent apoptosis inducers in vitro, are potentially effective chemotherapeutic agents against glioblastoma multiform. *Cancer Chemotherapy and Pharmacol* 45:149-156, (2000)
  29. Shinoura N, Yamamoto N, Yoshida Y, Fujita T, Saito N, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Adenovirus-mediated gene transduction of IkappaB or IkappaB plus Bax gene drastically enhances tumor necrosis factor (TNF)-induced apoptosis in human gliomas. *Jpn J Cancer Res* 91:41-51, (2000)
  30. Shinoura N, Ohashi M, Yoshida Y, Kirino T, Asai A, Hashimoto M, Hamada H.: Adenovirus-mediated overexpression of Fas induces apoptosis of gliomas. *Cancer Gene Ther* 7:224-232. (2000)
  31. Shinoura N, Saito K, Yoshida Y, Hashimoto M, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Adenovirus-mediated transfer of bax with caspase-8 controlled by myelin basic protein promoter exerts an enhanced cytotoxic effect in gliomas. *Cancer Gene Ther.* 7:739-748, (2000)
  32. Shinoura N, Satou R, Yoshida Y, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Adenovirus-mediated transfer of Bcl-X(L) protects neuronal cells from bax-induced apoptosis. *Exp Cell Res* 254: 221-231, (2000)
  33. Shinoura N, Muramatsu Y, Yoshida Y, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Adenovirus-mediated transfer of caspase-3 with Fas ligand induces drastic apoptosis in U-373MG glioma cells. *Exp Cell Res* 256:423-433, (2000)
  34. Shinoura N, Koike H, Furu T, Hashimoto M, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Adenovirus-mediated transfer of caspase-8 augments cell death in gliomas: implication for gene therapy. *Hum Gene Ther.* 11:1123-1137, (2000)
  35. Shinoura N, Yamamoto N, Yoshida Y, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Adenovirus-mediated transfer of caspase-8 in combination with superrepressor of NF-kappaB drastically induced apoptosis in gliomas. *Biochem Biophys Res Commun.* 271:544-552, (2000)
  36. Shinoura N, Yamamoto N, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Adenovirus-mediated Transfer of Fas Ligand Gene Augments Radiation-induced Apoptosis in U-373MG Glioma Cells. *Jpn J Cancer Res.* 91:1044-1050, (2000)
  37. Shinoura N, Yoshida Y, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Adenovirus-mediated transfer of p53 and Fas ligand drastically enhances apoptosis in gliomas. *Cancer Gene Ther.* 7:732-738, (2000)
  38. Zhu L, Saito N, Abe O, Okubo T, Yamada H, Kawahara N, Asai A, Kirino T.: Changes in the apparent diffusion coefficient of water and T2 relaxation time in gerbil hippocampus after mild ischemia. *Neuroreport.* 11:3333-3336, (2000)
  39. Shinoura N, Muramatsu Y, Asai A, Han S, Norii A, Kirino T, Hamada H: Degree of apoptosis induced by adenovirus-mediated transduction of p53 or p73 $\alpha$  depends on the p53 status of glioma cell. *Cancer Letters* 160:67-73, (2000)
  40. Noguchi K, Yamana H, Kitanaka C, Mochizuki T, Kokubu A, Kuchino Y.: Differential role of the JNK and p38 MAPK pathway in c-Myc- and s-Myc-mediated apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 267:221-227, (2000)
  41. Yamaoka K, Mishima K, Nagashima Y, Asai A, Sanai Y, Kirino T.: Expression of galectin-1 mRNA correlates with the malignant potential of human gliomas and expression of antisense

- galectin-1 inhibits the growth of 9 glioma cells. *J Neurosci Res* 59:722-730, (2000)
42. Qiu JH, Asai A, Chi S, Saito N, Hamada H, Kirino T.: Proteasome inhibitors induce cytochrome-c/caspase-3-like protease-mediated apoptosis in cultured cortical neurons. *J Neurosci* 20: 259-265, (2000)
  43. Shinoura N, Sakurai S, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Transduction of a Fiber-mutant Adenovirus for the HSVtk Gene Highly Augments the Cytopathic Effect towards Gliomas. *Jpn J Cancer Res.* 91:1028-1034, (2000)
  44. Shinoura N, Sakurai S, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Transduction of Apaf-1 or Caspase-9 induces apoptosis in A-172 cells that are resistant to p53-mediated apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 272:667-673, (2000)
  45. Mochizuki T, Asai A, Saito N, Tanaka S, Katagiri H, Asano T, Nakane M, Tamura A, Kuchino Y, Kitanaka C, Kirino T.: Akt protein kinase inhibits non-apoptotic programmed cell death induced by ceramide. *J Biol Chem* 277:2790-2797, (2001)
  46. Shinoura N, Sakurai S, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Caspase-9 transduction overrides the resistance mechanism against p53-mediated apoptosis in U-87MG glioma cells. *Neurosurgery.* 49: 177-186, (2001)
  47. Shinoura N, Sakurai S, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Co-transduction of Apaf-1 and caspase-9 augments etoposide-induced apoptosis in U-373MG glioma cells. *Jpn J Cancer Res.* 92:467-474, (2001)
  48. Shinoura N, Furitsu T, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Co-transduction of p27 Kip1 strongly augments Fas ligand- and caspase-8-mediated apoptosis in U-373MG glioma cells. *Anticancer Res* 21:3261-3268, (2001)
  49. Okamoto K, Shinoura N, Egawa N, Asai A, Kirino T, Shibasaki F, Shitara N.: Adenovirus-mediated transfer of p53 augments hyperthermia-induced apoptosis in U251 glioma cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 50:525-531, (2001)
  50. Shinoura N, Sakurai S, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Over-expression of APAF-1 and caspase-9 augments radiation-induced apoptosis in U-373MG glioma cells. *Int J Cancer* 93: 252-261, (2001)
  51. Kohda T, Asai A, Kuroiwa Y, Kobayashi S, Aisaka K, Nagashima G, Yoshida MC, Kondo Y, Kagiya N, Kirino T, Kaneko-Ishino T, Ishino F.: Tumour suppressor activity of human imprinted gene PEG3 in a glioma cell line. *Genes Cells.* 6:237-247, (2001)
  52. Kurita H, Kawahara N, Asai A, Ueki K, Shin M, Kirino T.: Radiation-induced apoptosis of oligodendrocytes in the adult rat brain. *Neurol Res.* 23:869-874, (2001)
  53. Fukamachi K, Matsuoka Y, Kitanaka C, Kuchino Y, Tsuda H.: Rat neuronal leucine-rich repeat protein-3: cloning and regulation of the gene expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 287:257-263, (2001)
  54. Noguchi K, Kokubu A, Kitanaka C, Ichijo H, Kuchino Y.: ASK1-signaling promotes c-Myc protein stability during apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 281:1313-1320, (2001)
  55. Mukasa A, Ueki K, Matsumoto S, Tsutsumi S, Nishikawa R, Fujimaki T, Asai A, Kirino T, Aburatani H.: Distinction in gene expression profiles of oligodendrogliomas with and without allelic loss of 1p. *Oncogene.* 21:3961-3968, (2002)
  56. Shinoura N, Sakurai S, Shibasaki F, Asai A, Kirino T, Hamada H.: Co-transduction of Apaf-1 and caspase-9 highly enhances p53-mediated apoptosis in gliomas. *Br J Cancer.* 86:587-595,



(2002)

57. Ueki K, Nishikawa R, Nakazato Y, Hirose T, Hirato J, Funada N, Fujimaki T, Hojo S, Kubo O, Ide T, Usui M, Ochiai C, Ito S, Takahashi H, Mukasa A, Asai A, Kirino T.: Correlation of histology and molecular genetic analysis of 1p, 19q, 10q, TP53, EGFR, CDK4, and CDKN2A in 91 astrocytic and oligodendroglial tumors. *Clin Cancer Res.* 8:196-201, (2002)
58. Mochizuki T, Asai A, Saito N, Tanaka S, Katagiri H, Asano T, Nakane M, Tamura A, Kuchino Y, Kitanaka C, Kirino T.: Akt protein kinase inhibits non-apoptotic programmed cell death induced by ceramide. *J Biol Chem.* 277:2790-2797, (2002)
59. Otsuki Y, Tanaka M, Kamo T, Kitanaka C, Kuchino Y, Sugimura H.: Guanine nucleotide exchange factor, Tiam1, directly binds to c-Myc and interferes with c-Myc mediated apoptosis in Rat-1 fibroblasts. *J Biol Chem.* In press
60. Kitanaka C, Kato K, Ijiri R, Sakurada K, Tomiyama A, Noguchi K, Nagashima Y, Nakagawara A, Momoi T, Toyoda Y, Kigasawa H, Nishi T, Shirouzu M, Yokoyama S, Tanaka Y, Kuchino Y.: Increased Ras expression and caspase-independent neuroblastoma cell death: possible mechanism of spontaneous neuroblastoma regression. *J Natl Cancer Inst.* 94:358-368, (2002)
61. Sakurada K, Kitanaka C, Kokubu A, Tomiyama A, Sunayama J, Kayama T, Kuchino Y.: A cellular mechanism that reversibly inactivates pancaspase inhibitor zAsp-CH(2)-DCB: a potential pitfall causing discrepancy between in vitro and in vivo caspase assays. *Biochem Biophys Res Commun.* 291:1022-1030, (2002)
62. Asai A, Tanahashi N, Qiu JH, Saito N, Chi S, Kawahara N, Tanaka K, Kirino T.: Selective proteasomal dysfunction in the hippocampal CA1 region after transient forebrain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 22:705-10, (2002)
63. Kirino T.: Ischemic tolerance. *J Cereb Blood Flow Metab.* 22:1283-1296, (2002)
64. Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S, Hatano O, Kawahara N, Tamura A, Kirino T, Nakafuku M.: Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell.* 110:429-441, (2002)
65. Kawahara N, Kawai K, Toyoda T, Nakatomi H, Furuya K, Kirino T.: Cardiac arrest cerebral ischemia model in mice failed to cause delayed neuronal death in the hippocampus. *Neurosci Lett.* 322:91-94, (2002)

(2) 特許出願

なし

(3) 新聞報道等

なし

(4) その他特記事項

なし