

令和元年6月13日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10317

研究課題名(和文) アデノ随伴ウイルスを用いて遺伝子導入した歯髄幹細胞移植による新規脳梗塞治療の開発

研究課題名(英文) Effect of Dental Pulp Stem Cells Overexpressing Therapeutic Gene in a Rat Stroke Model.

研究代表者

仁藤 智香子 (Nito, Chikako)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30409172

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを用いて肝細胞増殖因子(HGF)を強発現させたDPSC(DPSC/HGF)の移植により、急性期脳梗塞における治療効果の増強が得られるか検討した。虚血再灌流24時間後において、DPSC/HGF群では、対照群およびDPSC単独群に比し有意な梗塞体積の縮小を認め、皮質梗塞境界領域におけるIba1、TNF- α 発現や神経細胞死も有意な抑制を認めた。HGF強発現DPSC移植では、虚血脳組織における炎症抑制効果の増強が得られ、それらが神経保護効果に寄与した可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、ヒトの病態に近づけた脳虚血に対し、細胞治療と遺伝子治療の併用療法を静脈投与という最も侵襲の少ない投与方法により、その有効性と安全性を検討する点が独創的である。これらのことが証明できれば、本研究は脳梗塞という最もメジャーな中枢神経損傷疾患に対する新たな治療戦略の樹立へとつながり、高齢社会を迎え増加の一途をたどる虚血性脳血管障害の臨床に多大に貢献するものと考えている。

研究成果の概要(英文)： We aimed increasing therapeutic effect combining DPSC and ex vivo human hepatocyte growth factor (HGF) gene transferring with AAV vector. Rats were subjected to transient MCAO, followed by intravenous administration of DPSC or HGF transferred DPSC (DPSC/HGF) or vehicle immediately after reperfusion. Infarct volume at 24 and 72 h after reperfusion were diminished in both DPSC and DPSC/HGF transplantation compared with vehicle. DPSC/HGF transplantation showed more reduction of infarct volume compared with DPSC. Motor function recovery was also observed at 24 and 72 h in both DPSC and DPSC/HGF transplantation. Furthermore, Both DPSC and DPSC/HGF group improved neuronal degeneration compared with vehicle. DPSC/HGF markedly decreased brain tissue TNF- α and IL-1 concentrations compared with vehicle and DPSC. These findings show that this combination therapy may enhance the neuroprotective effect of DPSC transplantation alone through the modulation of inflammation in cerebral ischemia.

研究分野：脳血管障害

キーワード：歯髄幹細胞 遺伝子治療 幹細胞移植 脳虚血

1. 研究開始当初の背景 脳虚血における歯髄幹細胞 (DPSC) 移植の治療効果として, 抗炎症作用による神経保護作用が示唆されている。

2. 研究の目的 アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを用いて肝細胞増殖因子(HGF)を強発現させた DPSC の移植により, 急性期脳梗塞における治療効果の増強が得られるか検討した。

3. 研究の方法

ヒト HGF をクローニングした 1 型 AAV ベクターを構築後, DPSC に感染させ HGF 強発現 DPSC(DPSC/HGF)を準備した。ラット中大脳動脈を 90 分閉塞後に再灌流した。治療群は, 対照群, DPSC 単独群, DPSC/HGF 群の 3 群に分け, DPSC 単独群および DPSC/HGF 群では再灌流直後に細胞 1×10^6 個を, 対照群には PBS を尾静脈より投与した。再灌流 24 時間後及び 72 時間後において神経学的評価を行った後断頭し, 組織切片を作成し TTC 染色および免疫組織学的検討を行った。神経細胞死の評価には Fluoro-Jade C(FJC)法を用いた。

4. 研究成果

虚血再灌流 24 時間後及び 72 時間後において, HGF 強発現 DPSC 群では, 対照群および DPSC 単独群に比し有意な運動機能障害の改善及び梗塞体積の縮小を認め (図 1), 皮質梗塞境界領域における Iba1, TNF- α 発現や神経細胞死についても有意な抑制を認めた (図 2)。HGF 強発現 DPSC 移植では, 虚血脳組織における炎症抑制効果の増強が得られ, それらが神経保護効果に寄与した可能性が示唆された。

図 1.

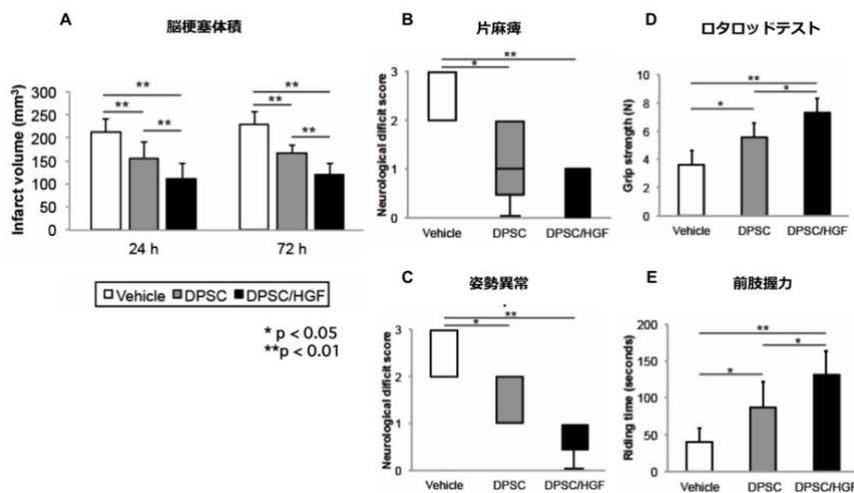
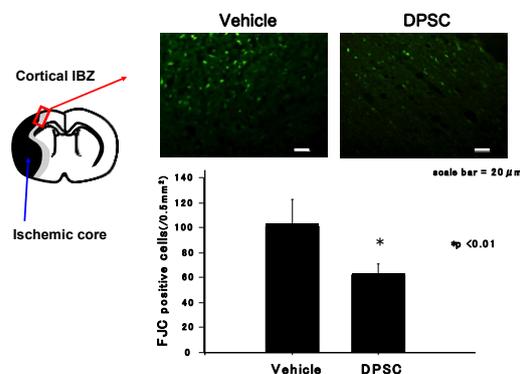


図 2.



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 1 件）

Sowa K, Nito C, Nakajima M, Suda S, Nishiyama Y, Sakamoto Y, Nitahara-Kasahara Y, Nakamura-Takahashi A, Ueda M, Kimura K, Okada T. Impact of Dental Pulp Stem Cells Overexpressing Hepatocyte Growth Factor after Cerebral Ischemia/Reperfusion in Rats. *Mol Ther methods Clin Dev.* 2018; 10: 281-290.

〔学会発表〕（計 3 件）

①Kota Sowa, Chikako Nito, Masataka Nakajima, Satoshi Suda, Yasuhiro Nishiyama, Aki Nakamura-Takahashi, Yuko Nitahara-Kasahara, Kiwamu Imagawa, Tohru Hirato, Masayuki Ueda, Kazumi Kimura, Takashi Okada. Effect of dental pulp stem cell overexpressing hepatocyte growth factor by AAV receptor in a rat stroke model. The 24th Annual Meeting Japan Society of Gene and Cell Therapy, 2018

② Kota Sowa, Chikako Nito, Masataka Nakajima, Satoshi Suda, Yasuhiro Nishiyama, Aki Takahashi, Yuko Kasahara, Kiwamu Imagawa, Tohru Hirato, Masayuki Ueda, Takashi Okada, Kazumi Kimura Therapeutic Effect of Human Dental Pulp Stem Cells Overexpressing Hepatocyte Growth Factor in Experimental Stroke. International Stroke Conference 2018

③ 岨康太, 仁藤智香子, 中島壯崇, 須田智, 上田雅之, 笠原優子, 今川究, 平戸徹, 岡田尚巳, 木村和美. ラット局所脳虚血モデルにおける HGF 強発現歯髄幹細胞移植の神経保護効果
第 61 回日本脳循環代謝学会学術集会 2018 年

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：須田智

ローマ字氏名： Satoshi Suda

所属研究機関名：日本医科大学

部局名：医学部

職名：講師

研究者番号（8桁）：00366733

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：岡田尚巳

ローマ字氏名： Takashi Okada

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。