

令和元年5月22日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10398

研究課題名(和文) 脊髄再生の足場となる新規自己集合体ペプチドゲル有効性の検証

研究課題名(英文) Self-assembling Peptide Reduces Glial Scarring, Attenuates Posttraumatic Inflammation, and Promotes Neurite Outgrowth of Spinal Motor Neurons

研究代表者

安藤 圭 (Ando, Kei)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40566973

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、いまだ未確立の脊髄損傷治療に対する細胞移植の足場となる新規自己集合体ペプチドゲルの効果、役割を調べることである。新規自己集合体ペプチドゲルを培地とすることで、controlに比較し神経軸索が明らかに伸びることを明らかとした。同時にin vivoにおいてラット脊髄損傷モデルを用いて、PanaceaGel単体で投与を試みたところ通常細胞が疎となる損傷部、損傷部周囲に明らかな細胞の進入、そしてこれに後押しされるように神経軸索の進入が確認された。これは主に、一度損傷が生じて、細胞が発育するに快適な環境が存在することで得られた結果と判断できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の研究では損傷神経を再生する試みが幾つか行われている。ES、IPSを含む神経幹細胞、骨髄幹細胞、シュワン細胞、歯髄幹細胞治療に神経栄養因子、神経再生抑制因子阻害剤の併用が有効であることが明らかとなり、脊髄損傷後の再生医療を中心とした期待が高まっている。しかし移植の損傷部位への有効性を高めるためには、移植細胞の分化の方向性を誘導する神経栄養因子および移植細胞の足場(scaffold)の併用が必須とされる。

研究成果の概要(英文)：Methods. We examined the effect of a self-assembling peptide, SPG-178, as a scaffold for neurite outgrowth of spinal motor neurons in vitro. An in vivo analysis was performed to evaluate if the SPG-178 scaffold attenuated or enhanced expression of various genes after spinal cord injury model rats. Results. Expression of NGF, BDNF, NT-4, TrkA, and TrkB increased in SPG-178-promoted neurite outgrowth of motor neurons in vitro. In vivo, SPG-178 increased expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and NGF, and decreased glial scar. Conclusion. This study provides new evidence for the role of SPG-178 as a scaffold in the spinal cord and suggests that this peptide is a neuroprotective factor that may serve as an alternative treatment for neuronal injuries.

研究分野：脊髄再生

キーワード：fibrous scar glial scar neurite outgrowth scaffold spinal cord injury

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷に関してNogo、セマフォリン、CSなどの神経再生抑制因子による病態解明が進み臨床応用が期待されるが回復効果は十分ではない。また最近注目のiPS細胞移植による再生治療も大いに期待されており、同様に移植細胞の分化の方向性を誘導する神経栄養因子および移植細胞の足場(scaffold)の併用が必須とされる。**そこで我々は移植細胞の足場(scaffold)と予測される自己集合体ペプチドゲル(PanaceaGel)に着目している。**

2. 研究の目的

近年の研究では損傷神経を再生する試みが幾つかなされている。ES、IPSを含む神経幹細胞、骨髄幹細胞、シュワン細胞、歯髄幹細胞移植の有効性が明らかとなり、脊髄損傷後の再生医療を中心とした期待が高まっている。しかし移植の損傷部位への有効性を高めるためには、移植細胞の分化の方向性を誘導する神経栄養因子および移植細胞の足場(scaffold)の併用が必須とされる。**我々は移植細胞の足場(scaffold)と予測される自己集合体ペプチドゲル(PanaceaGel)の有効性を明らかにした(科研費若手研究(B):平成25~26年)。**本研究ではこれまでの脊髄損傷に対する細胞移植の足場の併用効果を検証することを目的とする。

3. 研究の方法

生体内で安定したPanaceaGelの安全性を検証するとともに、in vitroでは神経細胞のprimary cultureにペプチドゲルを投与し、神経軸索突起の伸長効果を確認する。in vivoでは脊髄損傷モデル、特に臨床に近い胸髄圧挫損傷モデルを作成してペプチドゲル投与を行い、下肢運動機能の回復や感覚機能回復、組織学的検討を行い、その効果とメカニズムを示す。下肢運動機能、下肢感覚機能回復、酵素投与後に異常痛覚(アロデニア)を生じていない検証に関しては、より客観的に評価すべく電気生理学的検査もを行い、臨床応用が期待できるか検証する。また細胞移植やリハビリテーション(トレッドミル)との併用治療を行い、運動機能回復効果促進の程度も評価する。

4. 研究成果

In vitroでは、コントロール群に比較し、神経軸索突起の伸長(図1)そしてPCRにおいて各種神経栄養因子の発現上昇を確認した(図2)。In vivoでは損傷組織を採取し、PCRにおいて投与後7日後から神経成長因子の発現量が増加し、神経再生の促進が投与後速やかに開始されたと考えられた。また、MMP-9、3の発現量が投与7日後に最も高い値を

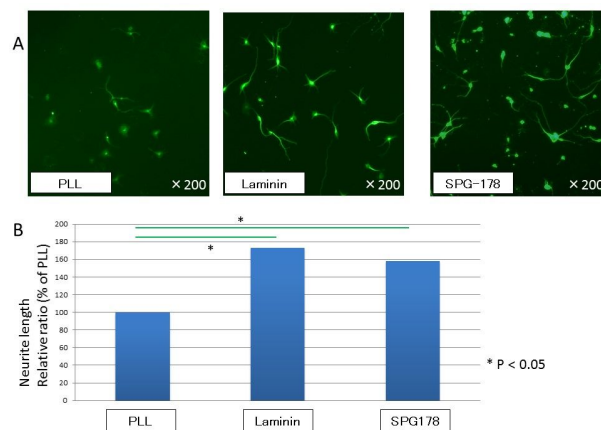
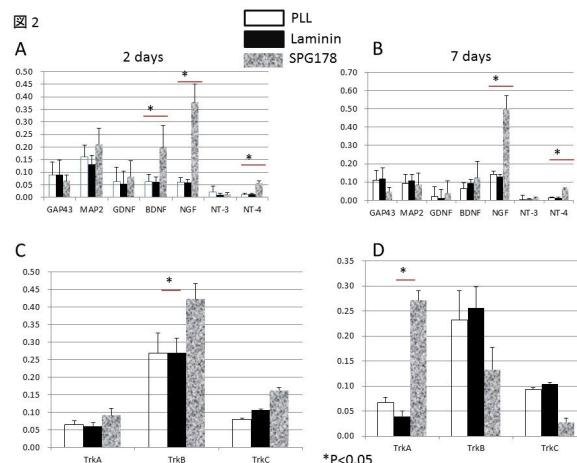
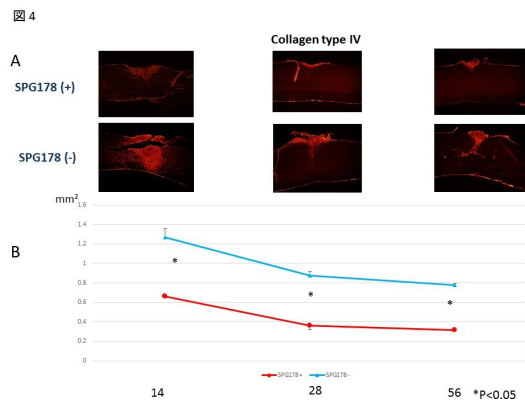
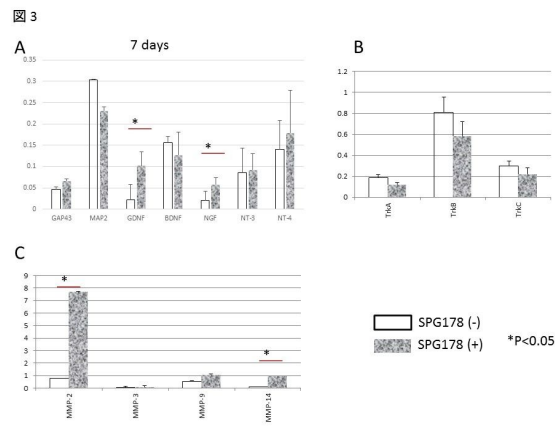


図1



*P<0,05

示し、経時的に低い値となった(図3)。そのため、神経再生開始後は、これらの因子による炎症が抑制されると考えられた。また物理的バリアーとなり軸索伸長を阻害し得る繊維性瘢痕(Collagen type4 染色)では、染色範囲が減少していることが確認された(図4)。また、通常細胞が疎となる損傷部、損傷部周囲に明らかな細胞の進入、そしてこれに後押しされるように神経軸索の進入が確認された。これは主に、一度損傷が生じて、細胞が発育するに快適な環境が存在することで得られた結果と判断できる。



5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

1. Kei Ando, Kazuyoshi Kobayashi, Masaaki Machino, Kyotaro Ota, Masayoshi Morozumi, Satoshi Tanaka, Yoshihiro Nishida, Naoki Ishiguro, Shiro Imagama. Wave changes in intraoperative transcranial motor-evoked potentials during posterior decompression and dekyphotic corrective fusion with instrumentation for ossification of the posterior longitudinal ligament European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology. 2019 Apr 23. doi: 10.1007/s00590-019-02435-1
2. Ando K, Kobayashi K, Ito K, Tsushima M, Morozumi M, Tanaka S, Machino M, Ota K, Nishida Y, Ishiguro N, Imagama S. Wave Change of Intraoperative Transcranial Motor-Evoked Potentials During Corrective Fusion for Syndromic and Neuromuscular Scoliosis. Oper Neurosurg (Hagerstown). 2019 Jan 1;16(1):53-58.
3. Ando K, Imagama S, Kobayashi K, Ito K, Tsushima M, Morozumi M, Tanaka S, Machino M, Ota K, Nishida K, Nishida Y, Ishiguro N. Feasibility and effects of a self-assembling peptide as a scaffold in bone healing: An in vivo study in rabbit lumbar posterolateral fusion and tibial intramedullary models. J Orthop Res. 2018 Dec;36(12):3285-3293.
4. Ando K, Imagama S, Ito Z, Kobayashi K, Hida T, Ito K, Tsushima A, Ishikawa Y, Matsumoto A, Nishida Y, Ishiguro N. A self-assembling peptide reduces glial scarring,

attenuates post-traumatic inflammation and promotes neurite outgrowth of spinal motor neurons. Spine 2016 Oct 15;41(20):E1201-E1207.

〔学会発表〕(計3件)

1. 第30回 (2015年)日本整形外科学会基礎学術集会 安藤圭、今釜史郎: A self-assembling peptide reduces glial scarring, attenuates post-traumatic inflammation and promotes neurite outgrowth of spinal motor neurons

〔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：今釜 史郎

ローマ字氏名：Imagama Shiro

所属研究機関名：名古屋大学

部局名：医学部附属病院

職名：講師

研究者番号(8桁): 40467288

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。