

令和元年6月23日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10830

研究課題名(和文) 脊髄損傷に対する骨髄幹細胞移植直後からの神経機能回復のメカニズムの解析

研究課題名(英文) Analysis of neural functional recovery mechanism immediately after bone marrow stem cell transplantation for spinal cord injury

研究代表者

押切 勉(Oshigiri, Tsutomu)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：70754612

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：脊髄損傷(SCI)モデルに対する骨髄間葉系幹細胞(MSC)の経静脈内投与による機能回復が報告される一方、脊髄損傷における脳の働きが注目されている。本研究では、急性期SCIラットにMSCの経静脈的投与を行い、脳のMicroarrayによる網羅的遺伝子発現解析から、運動機能回復に関連した遺伝子が15つ抽出された。このことからMSCの静脈内投与により、脳の神経保護および神経再生作用を有し、運動機能回復に関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊髄損傷患者に対する骨髄間葉系幹細胞の静脈内投与による再生医療の治療メカニズムの一つとして、脳における神経保護作用や神経再生作用が運動機能回復に関与していることがわかり、静脈内投与による脊髄局所だけでなく全身投与によって脳への作用が重要であることが分かった。今後脊髄損傷の再生医療のアプローチとして損傷局所だけでなく、中枢神経全体への治療介入の重要性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：While functional recovery from transvenous administration of bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) to spinal cord injury (SCI) models has been reported, the role of the brain in spinal cord injury has attracted attention. In this study, MSCs were intravenously administered to acute-phase SCI rats, and 15 genes related to recovery of motor function were extracted from comprehensive gene expression analysis by brain microarray. This suggests that intravenous administration of MSC has neuroprotective and regenerating effects on the brain and is involved in recovery of motor function.

研究分野：脊髄再生

キーワード：脊髄損傷 再生 骨髄間葉系幹細胞 静脈内投与 急性期 メカニズム 脳 遺伝子

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(SCI)モデルに対する骨髄間葉系幹細胞(MSC)の経静脈内投与による機能回復が報告される一方、脊髄損傷における脳の働きが注目されている。

2. 研究の目的

急性期SCIラットにMSCの経静脈的投与を行い、脳のMicroarrayによる網羅的遺伝子発現解析から、機能回復に関する分子メカニズムを解明することである。

3. 研究の方法

胸髄圧挫損傷翌日に治療群はMSC1.0x10⁶ cells/ccを、対象群はfresh-DMEM 1ccを経静脈的に投与した。移植3日目に大脳皮質運動野の脳組織からtotal RNAを抽出しMicroarray解析を行った(図1)。MSCによる発現変動遺伝子(DEGs)に対してreal time PCRによるvalidationを行った。DEGsの機能解析のため、Clue GO解析およびInteractome解析、細胞分化に関するpromoter解析を行った。行動学的評価にBBB scoreを用い、GSEA解析より運動機能に関連する遺伝子を抽出し、BBBscoreとの相関性を解析した。移植7日目のPCRを行い遺伝子発現量の経時的な変化を評価した。



図 1

4. 研究成果

- (1) Microarray解析(68,842遺伝子)からDEGs 38遺伝子が同定され、うち15 coding 遺伝子 (up:7, down:8)をPCR によりvalidationした(図2)。
- (2) Clue GO解析およびPromoter解析から神経保護および神経再生作用が示唆された。
- (3) GSEAからMSCと運動機能に関連する遺伝子が抽出され、PCRではBBB scoreと強い正の相関を認めた(図3)。
- (4) Day7の遺伝子発現量は正常化しており、DEGsは一過性の遺伝子発現変化であった(図4)。

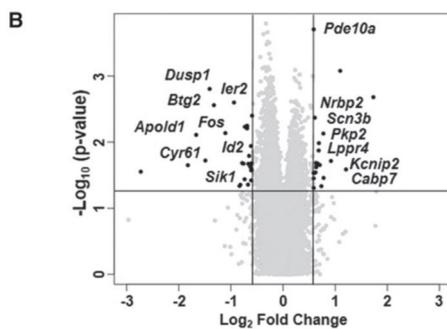


図 2

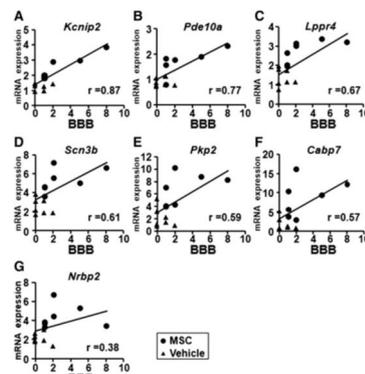


図 3

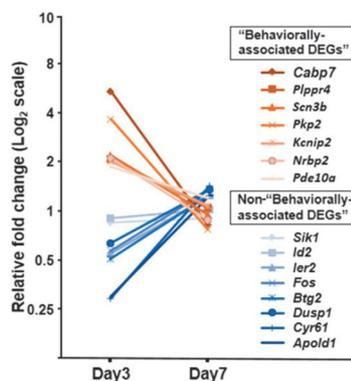


図 4

脳の Microarray 解析から、MSC の静脈内投与により、脳の神経保護および神経再生作用を有し、運動機能回復に関与していることが示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Tsutomu Oshigiri, Toru Sasaki, Masanori Sasaki, Yuko Kataoka-Sasaki, Masahito Nakazaki, Shinichi Oka, Tomonori Morita, Ryosuke Hirota, Mitsunori Yoshimoto, Toshihiko Yamashita, Kazue Hashimoto-Torii, and Osamu Honmou, Intravenous Infusion of Mesenchymal Stem Cells Alters Motor Cortex Gene Expression in a Rat Model of Acute Spinal Cord Injury, JOURNAL OF NEUROTRAUMA, 2019: 査読有, 36; 411-420:DOI 10.1089/neu.2018.5793

〔学会発表〕(計 1 件)

T.Oshigiri et.al. Intravenous Infusion of Mesenchymal Stem Cells Alters Motor Cortex Gene Expression in a Rat Model of Acute Spinal Cord Injury, orthopaedic research society, 2019

〔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)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 : 本望 修

ローマ字氏名 : Osamu Honmou

所属研究機関名 : 札幌医科大学

部局名 : 医学部

職名 : 教授

研究者番号 (8 桁) : 90285007

研究分担者氏名 : 山下 敏彦

ローマ字氏名 : Toshihiko Yamashita

所属研究機関名 : 札幌医科大学

部局名 : 医学部

職名 : 教授

研究者番号(8桁): 70244366

研究分担者氏名: 森田 智慶

ローマ字氏名: Tomonori Morita

所属研究機関名: 札幌医科大学

部局名: 医学部

職名: 研究員

研究者番号(8桁): 60723343

(2)研究協力者

なし

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。