

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：32667

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11813

研究課題名(和文)アルツハイマー病三次元病態モデルの構築とヒト歯髄幹細胞を用いた新規治療法の開発

研究課題名(英文) Reconstruction of three-dimensional Alzheimer's disease model in vitro and development of novel treatment by human dental pulp stem cells

研究代表者

肖 黎 (Xiao, Li)

日本歯科大学・生命歯学部・講師

研究者番号：80548256

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)：本研究は世界初で酸化ストレスによる脳組織の損傷とアミロイド クリアランスの低下を *In vitro*において再現し、アルツハイマー病態三次元モデルの構築に成功した。さらに、酸化ストレス耐性ヒト乳歯歯髄細胞(OST-SHED)を作製し、OST-SHEDはアルツハイマー病態モデルにおけるA β の蓄積を軽減し、A β 分解酵素であるNeprilysinの活性を増強することが明らかになった。このOST-SHEDは通常なヒト乳歯歯髄細胞(SHED)と比べて、生存率が低いものの、通常SHEDより多い神経栄養因子を分泌することが明らかになった。OST-SHEDはアルツハイマー病治療を改善する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

本研究は初めて *In vitro*においてアルツハイマー病の病態モデルを構築し、酸化ストレス耐性歯髄幹細胞の開発に成功した。この病態モデルと酸化ストレス耐性歯髄幹細胞を用いて、神経再生、抗酸化、A β クリアランス促進、抗老化を総合的に行う治療法を開発し、世界に先駆けて認知症を始めとする神経変性疾患の根本的な治療法を開発することにつながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study first reconstructed an *in vitro* three-dimensional model of Alzheimer's disease. Oxidative stress-tolerant stem cells from human exfoliated deciduous teeth (OST-SHED) were created by H2O2-stimulation. OST-SHED could protect the brain tissue from oxidative stress, reduce the accumulation of amyloid β (A β), and increase activity of Neprilysin (one of the A β degrading enzymes). Although OST-SHED had lower cell viability, the neuronal protection of OST-SHED was significantly superior to that of normal SHED. Our findings suggest that SHED, especially OST-SHED, could prevent oxidative stress induced brain damage and improve the pathology of Alzheimer's disease. OST-SHED can be explored as a new therapeutic tool for IBD, TBI and neurodegenerative disorders.

研究分野：再生歯学

キーワード：神経再生 アルツハイマー病 ヒト歯髄幹細胞 酸化ストレス アミロイド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病は認知症の過半数を占める神経変性疾患である。日本では現時点で、65歳以上の高齢者における認知症有病率は8~10%程度と推定され、社会損失は年間14.5兆円に達し、その対策は急務である。アルツハイマー病の神経病理学的な特徴は海馬や大脳皮質の萎縮が見られ、アミロイドβ(Aβ)の沈着による老人斑や神経原線維変化と呼ばれる神経細胞内のタウ蛋白質の蓄積が広範に認められる点である。その病態メカニズムについて、Aβ、タウの沈着はアルツハイマー病態の起点に位置づけられ、蓄積したAβ、タウが脳組織の慢性炎症を引き起こして、神経細胞の機能障害や死亡を誘発するというアミロイド仮説が提唱されている(Science,1992; 256:184-185)。Aβ、タウを標的とした治療はアルツハイマー病の根本的な治療法として、過去10年間に大規模治験が行われたが、いずれも期待されるような治療効果が得られなかった。最近、幹細胞を脳病変部位に移植する療法は、神経保護および神経再生の可能性があるので、アルツハイマー病治療の新たなアプローチとして注目を集めている(Transl Res. 2014; 163: 432-438)。特に医療廃棄物である抜去歯から採取したヒト歯髄幹細胞は、神経系細胞と同様に胎生期の神経堤に起源するため、神経再生治療に有用だと考えられている(Xiao et al., Human cell. 2013, 26:91-96)。申請者らは、無血清培地でのヒト歯髄幹細胞スフェロイド(細胞凝集塊)培養法を開発した。このスフェロイドを用いて、世界で初めて神経堤由来器官の発生段階で見られた上皮陥入モデルの作製に成功した(Xiao et al., J Cell Biochem. 2012, 113:1875-1885. Featured)(特許第5599669号)。このスフェロイドは、神経幹細胞マーカーであるHuC/Dとp75を発現し、無血清培地中長期間培養後、中心部低酸素、低栄養状態にもかかわらず、死細胞が極めて少なく、4ヶ月にわたって生存できた。神経分化誘導されると、機能的なニューロンおよびグリア細胞に分化したことが明らかになった(Xiao et al., J Cell Biochem. 2013, 114: 2624-2636; Xiao et al., Biol Cell. 2014;106:405-419; 他1報投稿中)。つい最近の研究では、ヒト歯髄幹細胞は共培養の成体マウス海馬組織における神経細胞死を抑制するとともに、神経細胞の新生を促進したことが分かった

2. 研究の目的

本研究はin vitroにおいて、アルツハイマー病三次元病態モデルを構築し、ヒト歯髄幹細胞由来スフェロイドと漢方薬剤の併用で、新規アルツハイマー病治療法を創出することを目的とする。

計画している具体的な研究項目は 培養海馬組織を用いたアルツハイマー病三次元病態モデルの構築、アルツハイマー病に対するヒト歯髄幹細胞由来スフェロイドの神経保護・再生効果の検証、脳組織炎症状態の改善や神経再生を多標的に促進する漢方薬剤の開発、3つである。

3. 研究の方法

本研究は、アルツハイマー病三次元病態モデルを構築し、ヒト歯髄幹細胞スフェロイドと漢方薬剤との併用により新規アルツハイマー病治療法を創出することを目的とする。そのために、次のような計画・方法で研究を行う。アルツハイマー病三次元病態モデルの構築：海馬組織とマクロファージの共培養系に対して酸化ストレスを曝露することにより、Aβ、タウの蓄積及び微小環境の変化を有する病態モデルを構築する。アルツハイマー病に対するヒト歯髄幹細胞スフェロイドの有効性の検証：アルツハイマー病疾患モデルにヒト歯髄幹細胞由来スフェロイドを投与し、その神経保護・再生効果を検証する。微小環境改善および神経再生に有効な漢方薬剤の開発：アルツハイマー病疾患モデルを用いて、病態を改善する漢方薬剤をスクリーニングする。

4. 研究成果

本研究は初めてin vitroにおいてアルツハイマー病の病態モデルを構築し、酸化ストレス耐性歯髄幹細胞の開発に成功した。この病態モデルと酸化ストレス耐性歯髄幹細胞を用いて、神経再生、抗酸化、Aβクリアランス促進、抗老化を総合的に行う治療法を開発し、世界に先駆けて認知症を始めとする神経変性疾患の根本的な治療法を開発することにつながると考えられる。本研究で発表された論文は下記の通りである。

Xiao L, Liao F, Ide R, et al. Enzyme-digested Colla Corii Asini (E' jiao) prevents hydrogen peroxide-induced cell death and accelerates amyloid beta clearance in neuronal-like PC12 cells. Neural Regen Res. 2020. In press.

Xiao L, Saiki C, Okamura H. Oxidative Stress-Tolerant Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth Decrease Hydrogen Peroxide-Induced Damage in Organotypic Brain Slice Cultures from Adult Mice. Int J Mol Sci. 2019;20 pii: E1858. doi: 10.3390/ijms20081858. PubMed PMID: 30991705

Xiao L, Kumazawa Y, Okamura H. Three-Dimensional Inflammatory Human Tissue Equivalents of Gingiva. J Vis Exp. 2018; 134, doi: 10.3791/57157.

Xiao L, Ide R, Saiki C, Kumazawa Y, Okamura H. Human Dental Pulp Cells Differentiate toward Neuronal Cells and Promote Neuroregeneration in Adult Organotypic Hippocampal

Slices In Vitro. *Int J Mol Sci.* 2017;18: pii: E1745.

Xiao L, Sakagami H, Miwa N. ACE2: The key Molecule for Understanding the Pathophysiology of Severe and Critical Conditions of COVID-19: Demon or Angel?. *Viruses.* 2020;12(5):E491. Published 2020 Apr 28. doi:10.3390/v12050491

Xiao L, Liao F, Zhou XS, Qin YF, Miwa N: Biological effects of traditional Chinese medicine *Corii colla asini*, *New Food Industry*, 61 (1): 65-72, 2019 .

肖 黎. 新型コロナウイルス感染症に対する最新知見と有効な漢方薬, *New Food Industry*, 62 (3): 181-184, 2020.

肖 黎. 手作りマスク安全なの? マスク用生地フィルター性能簡易測定法の開発, *New Food Industry*, 63 (6): 412-414, 2020.

肖 黎. コロナストレスと楽しい研究生活, *New Food Industry*, 63 (6): 443-444, 2020.

Xiao L, Sakagami H, Miwa N. A New Method for Testing Filtration Efficiency of Mask Materials Under Sneeze-like Pressure. *In Vivo.* 2020. In press.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Xiao Li, Saiki Chikako, Okamura Hisashi	4. 巻 20
2. 論文標題 Oxidative Stress-Tolerant Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth Decrease Hydrogen Peroxide-Induced Damage in Organotypic Brain Slice Cultures from Adult Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1858 ~ 1858
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20081858	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Xiao L, Liao F, Zhou XS, et al.	4. 巻 61
2. 論文標題 Biological effects of traditional Chinese medicine Corii colla asini,	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New Food Indust	6. 最初と最後の頁 65-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Xiao Li, Ide Ryoji, Saiki Chikako, Kumazawa Yasuo, Okamura Hisashi	4. 巻 18
2. 論文標題 Human Dental Pulp Cells Differentiate toward Neuronal Cells and Promote Neuroregeneration in Adult Organotypic Hippocampal Slices In Vitro	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1745 ~ 1745
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms18081745	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Xiao Li, Okamura Hisashi, Kumazawa Yasuo	4. 巻 134
2. 論文標題 Three-dimensional Inflammatory Human Tissue Equivalents of Gingiva	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 e57157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.3791/57157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Xiao L, Liao F, Ide R, et al.	4. 巻 In press
2. 論文標題 Enzyme-digested Colla Corii Asini (E' jiao) prevents hydrogen peroxide-induced cell death and accelerates amyloid beta clearance in neuronal-like PC12 cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neural Regen Res.	6. 最初と最後の頁 00-00
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Xiao Li, Sakagami Hiroshi, Miwa Nobuhiko	4. 巻 12
2. 論文標題 ACE2: The key Molecule for Understanding the Pathophysiology of Severe and Critical Conditions of COVID-19: Demon or Angel?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 491 ~ 491
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v12050491	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 肖 黎	4. 巻 62
2. 論文標題 新型コロナウイルス感染症に対する最新知見と有効な漢方薬	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 New Food Industry	6. 最初と最後の頁 181-184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 肖 黎	4. 巻 62
2. 論文標題 手作りマスク安全なの？マスク用生地フィルター性能簡易測定法の開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 New Food Industry	6. 最初と最後の頁 412-414
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 肖 黎	4. 巻 62
2. 論文標題 コロナストレスと楽しい研究生活	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 New Food Industry	6. 最初と最後の頁 443-444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Xiao Li, Sakagami Hiroshi, Miwa Nobuhiko	4. 巻 In press
2. 論文標題 A New Method for Testing Filtration Efficiency of Mask Materials Under Sneeze-like Pressure	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 In vivo	6. 最初と最後の頁 00-00
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 肖 黎, 井出良治, 佐伯周子, 熊澤康雄, 岡村 尚
2. 発表標題 成体マウス海馬スライスの神経細胞の新生に対するヒト歯髄由来幹細胞の促進作用
3. 学会等名 第36回日本ヒト細胞学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Xiao L, Saiki C, Ide R
2. 発表標題 Human dental stem cells promote neurogenesis and protect neuronal cells from oxidative stress in adult mouse organotypic brain slices in vitro
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	佐伯 周子 (Saiki Chikako) (90281435)	日本歯科大学・生命歯学部・准教授 (32667)	
研究 分担者	岡村 尚 (Okamura Hisashi) (80795154)	日本歯科大学・生命歯学部・助教 (32667)	