

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18457

研究課題名(和文) 脂肪由来間葉系間質細胞を用いた重度脊髄損傷治療効果の検証および治療効果機序の検討

研究課題名(英文) Adipose-derived mesenchymal stromal cells transplantation for severe spinal cord injury and the mechanism of therapeutic effect

研究代表者

高橋 藍 (Takahashi, Ai)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・助教

研究者番号：90615303

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪由来間葉系間質細胞(adipose derived mesenchymal stem cell; AD-MSC)は採取が容易であり、自家移植が可能な新しい材料である。私たちはこれまでに、AD-MSCはBM-MSCと比較して低酸素条件、酸化ストレスに抵抗性があり、移植後の生存率が良好であること、移植後の運動機能改善、神経再生、血管新生について報告している。本研究では、臨床問題となるような重度脊髄損傷ではAD-MSC移植とトレッドミルトレーニングの併用により運動機能の改善が得られること、酸化ストレス下でVEGF、CCL2の合成能が上昇することについて報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊髄損傷は高所転落などによる高エネルギー外傷に加え、転倒などの軽微な外傷で生じることが多い。重度脊髄損傷では持続的な麻痺や感覚障害を発症し、ADLの低下を招く。脊髄損傷の治療法として、脂肪由来間葉系間質細胞の移植が治療効果を有すると考えられており、本研究では治療効果と効果の機序を検証するものである。

研究成果の概要(英文)：Adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-MSCs) are a new transplantation material that is relatively easy to harvest. We have previously reported that AD-MSCs are more resistant to hypoxic conditions and oxidative stress than bone marrow stromal cells, have better survival rate after transplantation, and improve motor function, nerve regeneration, and angiogenesis after transplantation. In this study, we reported that (1) AD-MSC transplantation combined with treadmill training can improve motor function in severe spinal cord injury, and (2) the synthetic capacity of VEGF and CCL2 is increased under oxidative stress.

研究分野：整形外科学関連

キーワード：脊髄損傷 脂肪由来間葉系間質細胞 酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

急性脊髄損傷の治療方法のひとつとして、間葉系間質細胞 (mesenchymal stromal cell ; MSC) の移植が治療効果を有すると考えられている。MSC は神経組織などへの分化ではなく、サイトカイン等の外分泌能による神経保護効果や血管新生効果により治療効果を発揮すると考えられるが、未だ治療効果の機序は明らかになっておらず、また重度脊髄損傷に対する治療効果の限界についても示唆されている。

2. 研究の目的

本研究では脂肪由来間葉系間質細胞 (adipose-derived mesenchymal stromal cell ; AD-MSC) を用いて、AD-MSC 移植による重度脊髄損傷治療効果の検証、AD-MSC 移植後の脊髄内サイトカイン / ケモカイン発現定量および治療効果責任遺伝子 X の解明、責任遺伝子 X を導入した X-overexpressing AD-MSC を用いた治療効果解析、の 3 課題の実験を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウス骨髄間質細胞 (mesenchymal stromal cell ; BM-MSC) および AD-MSC を用いて DNA マイクロアレイ法で遺伝子発現の比較解析を行った。

(2) 上記で使用した AD-MSC, BM-MSC を 20.5% 酸素条件および 1.0% 低酸素条件で培養し定量 PCR 法で主要なサイトカインの変動発現を比較解析した。

(3) AD-MSC に 0 ~ 1000 μ M 過酸化水素にて酸化ストレスを付加し、マルチプレックスフローサイトメトリー法で主要な遺伝子の発現変動を解析した。

(4) 動物実験では、SD ラットを用いて IH インパクトにて重度脊髄損傷モデルを作成し、AD-MSC 移植 + トレッドミルトレーニング群 (AD + RH)、細胞移植なし + トレッドミルトレーニング群 (PBS + RH)、細胞移植なし + トレッドミルトレーニングなし群 (control)、に分け 10 週間 BBB スコアでの運動機能評価を行った。

4. 研究成果

(1) マイクロアレイ法で遺伝子発現の比較解析を行った結果、AD-MSC が BM-MSC より 2 倍以上多く発現していた遺伝子は 2691 個であり、FGF, Angiopoietin, VEGF, SDF-1 等の血管新生因子を含んでいた。

(2) AD-MSC, BM-MSC を 20.5% 酸素条件および 1.0% 低酸素条件で培養し定量 PCR 法で主要なサイトカインの変動発現を比較解析した結果、Angiopoietin, FGF-1, Vcam1 ではいずれの酸素条件でも AD-MSC において発現が上昇していた (図 1)。

(3) AD-MSC に 0 ~ 1000 μ M 過酸化水素にて酸化ストレスを付加し、マルチプレックスフローサイトメトリー法で主要な遺伝子の発現変動を解析した結果、過酸化水素暴露下において VEGF, FGF-1, CCL2 の発現が有意に上昇した。

(4) 動物実験では、AD-MSC 移植 + トレッドミルトレーニング群が細胞移植なし + トレッドミルトレーニングなし群に対し有意な運動機能の改善を認めた (図 2)。

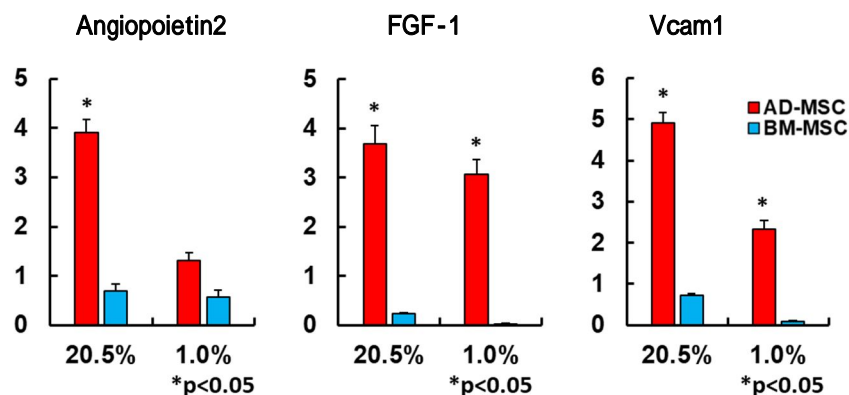


図 1. 低酸素条件における遺伝子発現の変化

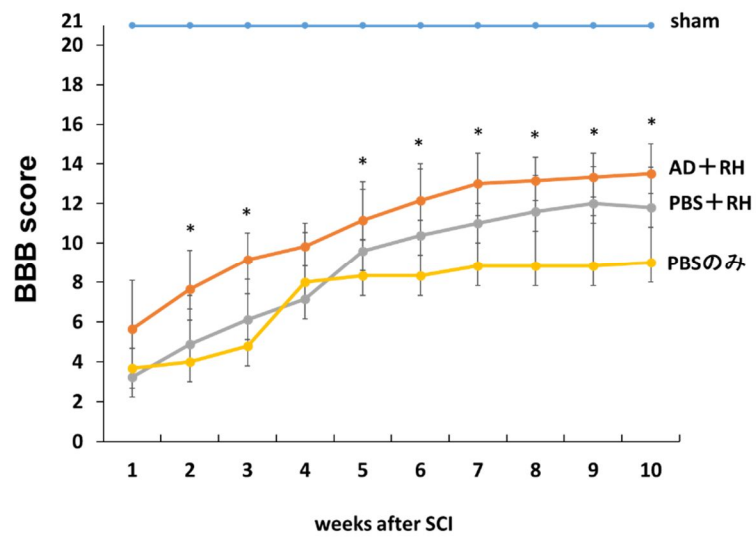


図 2. AD-MSC 移植 + トレッドミルトレーニングによる運動機能改善効果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋 藍, 中嶋 秀明, 本定 和也, 竹浦 直人, 渡邊 修司, 松峯 昭彦
2. 発表標題 脂肪由来間葉系間質細胞に対する酸化ストレスの影響および重度脊髄損傷治療効果
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会
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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------