

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19049

研究課題名(和文) 唾液腺再生メカニズムの解明 ハイドロゲルを用いた神経細胞培養技術構築

研究課題名(英文) Establishment of the nerve cell culture technique with hydrogel

研究代表者

池田 篤司 (IKEDA, ATSUSHI)

富山大学・学術研究部医学系・助教

研究者番号：00626252

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：1) 神経細胞伸長に最適なマテリアルの作製を目指していたが、想定した結果は得られなかった。2) 作製したハイドロゲルを用いて組織培養の際の神経組織の伸長に最適な機能性ペプチド修飾ハイドロゲルを探索するとともに、そのメカニズムの検討を目指していたが、計画通りに進まず達成出来なかった。3) 神経細胞伸長の足場として最適なハイドロゲルを用いて神経組織の線形の形態を付与することを目指していたが、計画通りに進まず達成できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究にて神経細胞伸長の制御が可能となれば、怪我や手術などによって切断されてしまった末梢神経の修復や神経外傷後の神経障害性疼痛に対する有効な治療手段となり得る。神経切断に伴う運動障害・知覚障害および神経外傷後の神経障害性疼痛などは患者のQOLの低下の要因となるが、生体外にて組織培養した神経組織を生体内に移植することが出来れば、これらのデメリットがなく患者のQOL回復へとつながる画期的な治療法になると考える。今回の研究期間内で明確な研究結果は得られなかったが、今後の研究に繋げていくことを目指していく。

研究成果の概要(英文)：1) We aimed to produce the most suitable material for nerve cell elongation, but we could not obtain the expected results. 2) Using the prepared hydrogel, we searched for the optimal functional peptide-modified hydrogel for the elongation of nerve tissue during tissue culture, and aimed to investigate the mechanism, but we could not achieve it as planned. 3) We aimed to impart a linear morphology of nerve tissue using hydrogel, which is optimal as a scaffold for nerve cell elongation, but we could not achieve it because it did not proceed as planned.

研究分野：口腔外科学

キーワード：唾液腺

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔の機能として重要な構音および接触・嚥下機能にとって、円滑に機能するには唾液の働きが極めて重要である。

唾液分泌低下によるこれらの機能低下は、患者の QOL を著しく低下させる。

唾液腺は一度損傷してしまうと完全な組織再生が困難であり、唾液腺組織再生療法の開発が望まれている。

唾液腺の成長には種々の成長因子や組織周環境に加えて、神経細胞の伸長およびその制御が重要である。

神経細胞の伸長を制御することは、唾液腺成長のみならず、その他の組織成長制御にも用いることが可能である。そこで、本研究ではハイドロゲルを用いて作製した基板を用い、唾液腺組織成長ならびに神経細胞伸長を制御するための技術構築を目指した。

2. 研究の目的

本研究ではハイドロゲルを用いた生体擬似的環境を基盤に、周囲環境に伴う顎下腺成長変化メカニズムの検討、および顎下腺成長制御を目的とし、細胞接着能、細胞凝集能をもつ機能性ペプチドを修飾したハイドロゲルを作製し、使用することで唾液腺組織中の神経細胞伸長制御技術の構築を目指す。

また、この技術を今後の高い必要性が予測される *in vitro* での生体組織成長制御技術の1つとして、唾液腺のみならず、他の組織にも使用できる技術としての構築を目的とした。

3. 研究の方法

1) 神経細胞伸長を促進させるためのバイオマテリアルの作製と最適化

細胞接着性、細胞凝集作用といった様々な機能を持つペプチドを使用する。

アルギン酸ナトリウム水溶液に機能性ペプチドを溶解させ、carbodiimide hydrochloride, N-hydroxysulfosuccinimide を添加し攪拌する。

この溶液を透析膜を用いて透析後に、凍結乾燥することで機能性ペプチドが結合したアルギン酸が得られる。

これを水に溶解させ塩化カルシウムと反応させ機能性ペプチドが固定化されたハイドロゲルを作製する。

2) 作製したバイオマテリアルが神経細胞伸長を誘導するメカニズムの検討

作製したハイドロゲルを用いて組織培養の際の神経組織の伸長に最適な機能性ペプチド修飾ハイドロゲルを探索するとともに、そのメカニズムを検討する。

神経細胞として PC12 細胞を使用し、機能性ペプチド修飾させたハイドロゲル上で培養する。

神経伸長の様子を時間ごとに撮影し、その影響を検討する。

また、培養液に細胞凝集能を有するペプチドを添加しその効果を検討する。

3) 神経組織の再生へとつながるハイドロゲル形態の作製

神経細胞伸長の足場として最適なハイドロゲルを用いて神経組織様の線形状の形態を付与する。

まず、同じ直径を有するビーズ状のハイドロゲルを作製する。

それを直線状に配列することで線形状のハイドロゲルを作製する。

また、このハイドロゲルを用いて神経細胞の培養技術を確立する。

4. 研究成果

1) 神経細胞伸長を促進させるためのバイオマテリアルの作製と最適化

細胞接着性、細胞凝集作用といった様々な機能を持つペプチドを使用して、神経細胞伸長に最適なマテリアルの作製を目指していたが、想定した結果は得られなかった。

2) 作製したバイオマテリアルが神経細胞伸長を誘導するメカニズムの検討

作製したハイドロゲルを用いて組織培養の際の神経組織の伸長に最適な機能性ペプチド修飾ハイドロゲルを探索するとともに、そのメカニズムの検討を目指していた。また、神経細胞として PC12 細胞を使用し、機能性ペプチド修飾させたハイドロゲル上で培養し神経伸長の様子を時間ごとに撮影することで、その影響を検討することを目指していたが、計画通りに進まず達成できなかった。

また、培養液に細胞凝集能を有するペプチドを添加しその効果を検討する予定であったが、期待していた結果は得られなかった。

3) 神経組織の再生へとつながるハイドロゲル形態の作製

神経細胞伸長の足場として最適なハイドロゲルを用いて神経組織の線形の形態を付与することを目指していたが、計画通りに進まず達成できなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 なし	4. 巻 なし
2. 論文標題 なし	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 なし	6. 最初と最後の頁 なし
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 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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------