

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08163

研究課題名（和文）早産児脳障害に対する骨髄間葉系幹細胞を用いた新規治療法の開発

研究課題名（英文）Mesenchymal stem cells for brain injury of prematurity in a rat model.

研究代表者

寺田 光次郎（Terada, Kojiro）

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：80843531

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）：低酸素虚血に炎症による刺激を加えた、周産期脳障害ラットを作製し、骨髄幹細胞（MSC）の静脈内投与による治療効果について検討した。行動学的解析では、MSC群において、運動機能、空間認知機能の改善が認められ、MSCに治療効果があることを確認した。また7T-MRIを用いて、MSC投与前後における大脳容積の変化を評価し、MSC群で残存大脳容積の増大が認められた。組織学的解析では、障害を受けた側と反対側の大脳皮質厚の増大、神経細胞数、シナプスの増加が認められた。これらの結果から、周産期脳障害に対するMSC治療は、残存する大脳の機能を賦活化する可能性があり、有力な治療手段になりうると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果により、発達脳においては、MSCの経静脈的投与が障害を受けた組織のみならず残存する大脳の神経組織を賦活化する可能性が示唆された。周産期の虚血性脳疾患に対するMSCの有用性が改めて認識され、さらに、虚血だけではなく炎症が関与する、より重症な脳障害においても、MSCが効果的である可能性が示唆された。周産期脳障害に対する有効な治療法は現時点で存在せず、将来的な治療手段になりうると考えられた。

研究成果の概要（英文）：We have developed perinatal brain injury rats with hypoxia-ischemia plus inflammatory stimulation to evaluate the therapeutic efficacy of intravenous administration of bone marrow stem cells (MSCs). Behavioral analysis showed improvements in motor and spatial cognitive functions in the MSC group, confirming that MSCs have a therapeutic effect. Using 7T-MRI, changes in cerebral volume were evaluated before and after MSC administration, and an increase in residual cerebral volume was observed in the MSC group. Histological analysis showed increased cortical thickness, number of neurons, and synapses on the side contralateral to the injured side. These results suggest that MSC treatment for perinatal brain injury may activate the remaining cerebral functions and may be a promising treatment modality.

研究分野：小児科学

キーワード：周産期脳障害 骨髄間葉系幹細胞 早産児 脳室周囲白質軟化症 新生児低酸素性虚血性脳症 脳性麻痺 再生医療

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

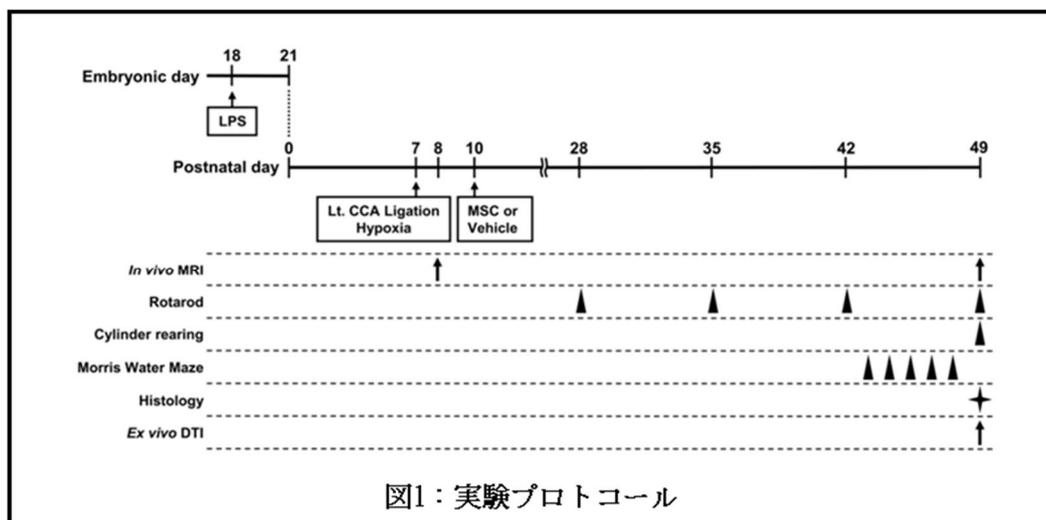
脳室周囲白質軟化症を代表とする周産期脳障害は、現時点で有効な治療法が存在せず、種々の神経学的後遺障害の原因となる。我々は先行研究において、正期産児の脳性麻痺の主要な原因である、新生児低酸素性虚血性脳症 (Hypoxic ischemic encephalopathy : HIE) のモデルラットに対して、骨髄間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells : MSC) を経静脈的に投与した結果、治療効果があることを報告した¹⁾。本研究では、切迫早産の主な原因が子宮内感染症であることを踏まえて、HIE モデルに炎症による刺激を加えた、より重症な周産期脳障害 (Perinatal brain injury : PBI) に対する新たな治療法を開発するために、我々が既に確立した PBI モデルラットに対する MSC の治療効果を検討した。

2. 研究の目的

発達脳における虚血性疾患の代表である HIE に対する細胞治療は、我々を含め過去に多くの動物実験が行われ、その治療効果が報告されている²⁾。一方で、炎症と虚血を基盤とする周産期脳障害に関連する動物実験モデルは十分に確立されておらず、その治療法に至るまで詳細な研究が為されていない。このため本研究では、PBI モデルラットに対して MSC を経静脈的に投与し、その治療効果を検証することを目的とした。

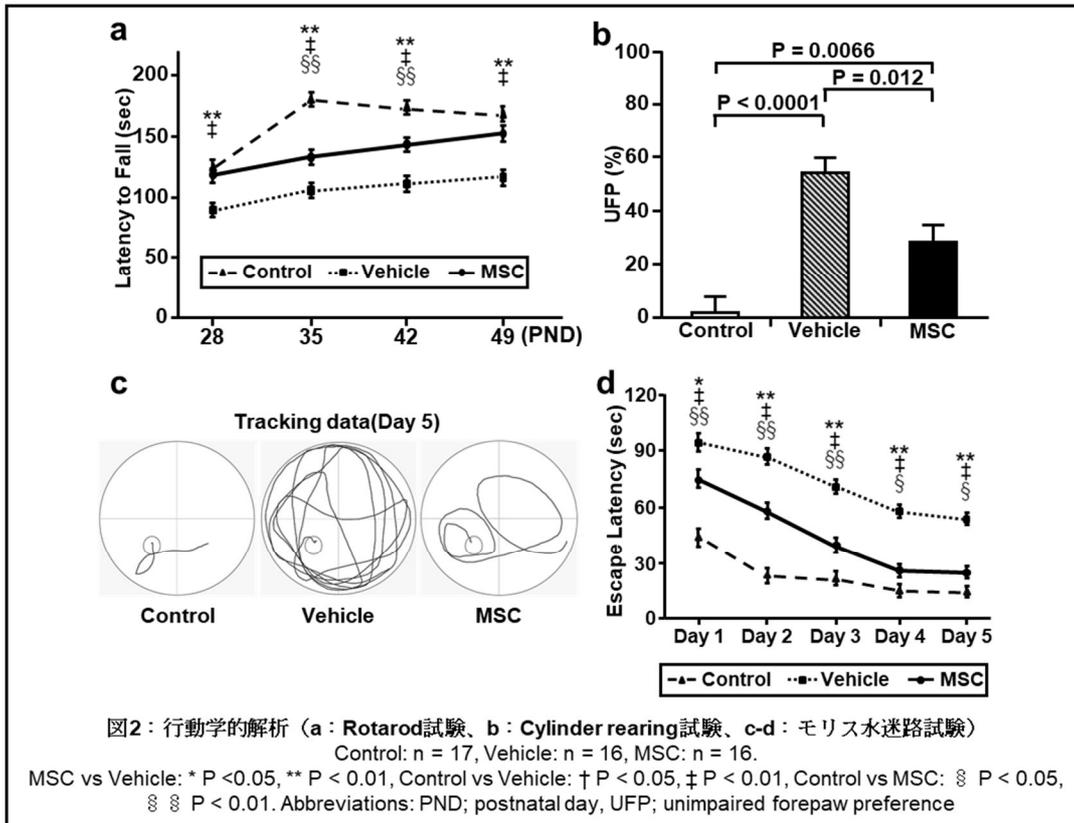
3. 研究の方法

胎生 18 日の妊娠ラットにエンドトキシンである Lipopolysaccharide (LPS) を腹腔内投与する。出生した新生仔ラットに対して、日齢 7 に左総頸動脈を結紮後、インキュベーター内で低酸素環境 (8%酸素、2 時間) に曝露することで、左大脳半球に広範囲の虚血性病変を呈する PBI モデルラットを作製する。日齢 10 に別の成体ラットより採取、培養した MSC (1.0×10^6 個) を左大腿静脈より静脈内投与する。観察期間は生後 7 週までとし、以下のプロトコールで種々の解析を実施した (図 1)。

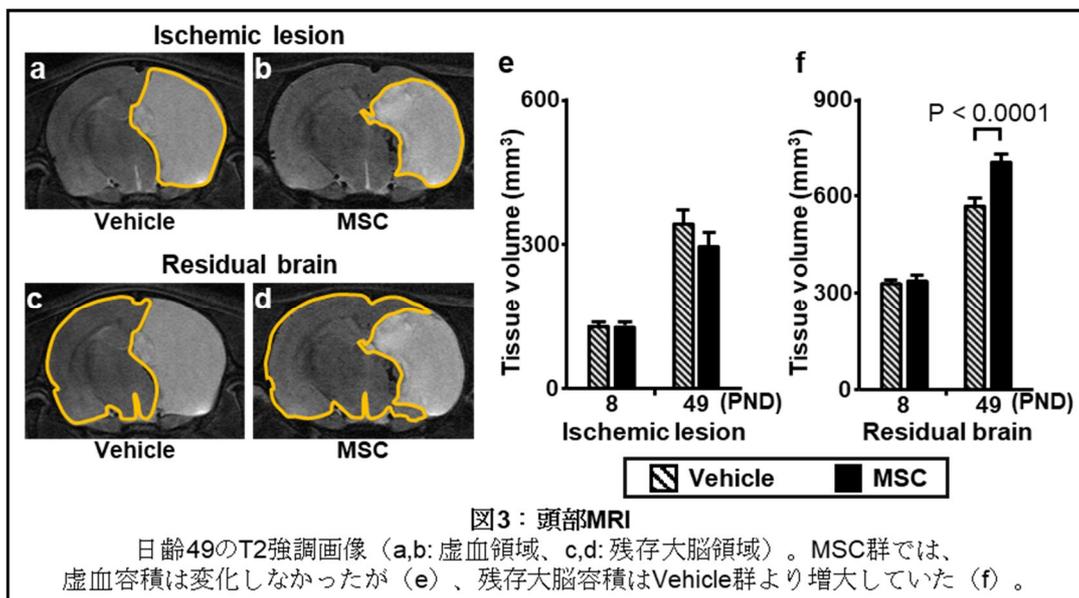


4. 研究成果

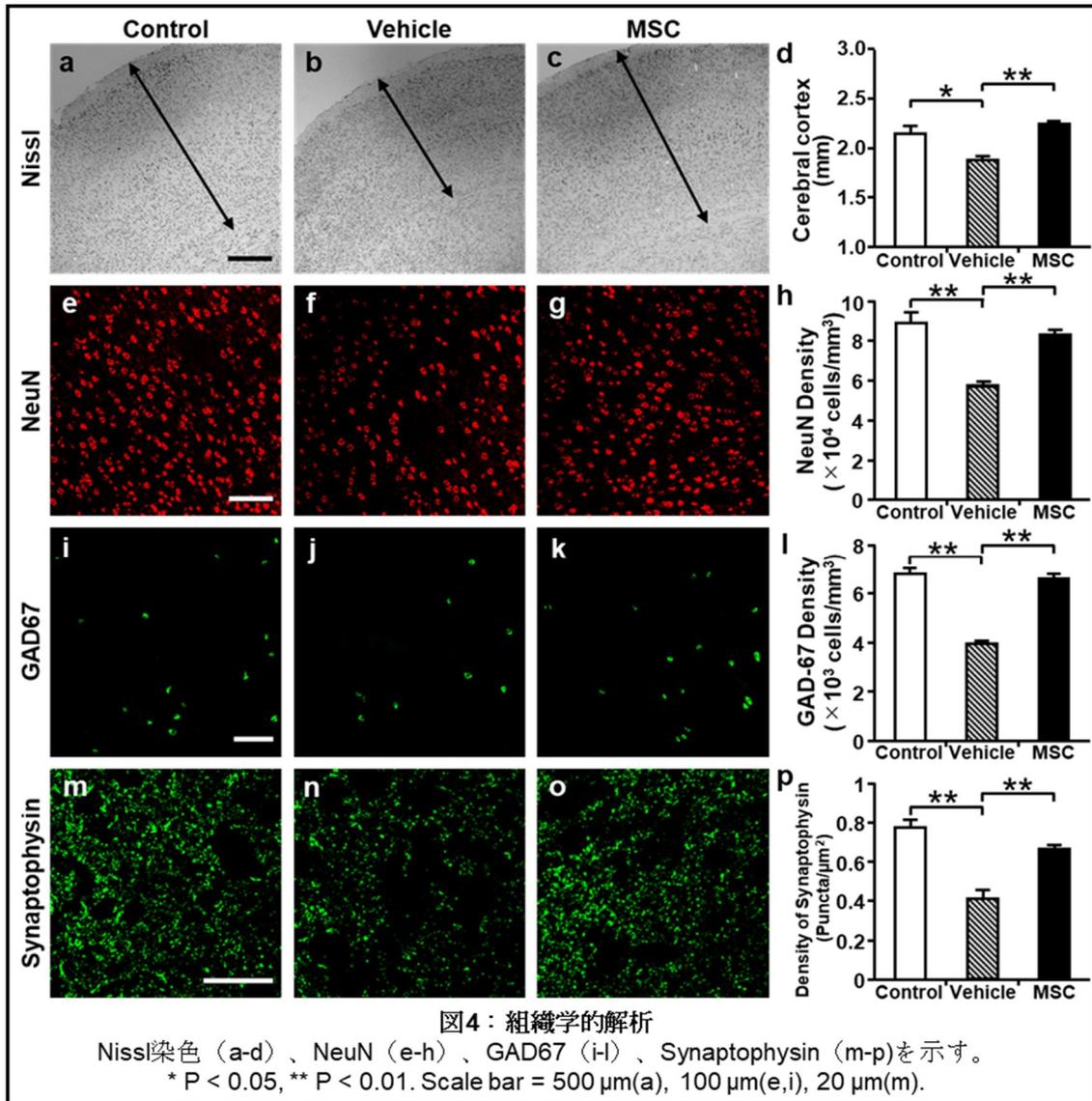
行動学的解析 (Rotarod 試験、Cylinder rearing 試験、モリス水迷路試験) では、MSC 群で運動機能、空間認知機能ともに改善が認められた (図 2)。



動物用 7T-MRI を用いて、MSC 投与前後の大脳容積の変化を検証した。MSC 群では、Vehicle 群と比較して、MSC 投与後に虚血容積は減少しなかったが、残存大脳容積の有意な増大が認められた。



さらに組織学的解析では、MSC 群で、虚血側と反対側の大脳において、大脳皮質厚の増大、神経細胞（大脳皮質）・GABA ニューロン（海馬）の増加、シナプス（大脳皮質）の増加が認められた（図 4）。



観察期間終了後の脳組織を用いて、Ex vivo diffusion tensor imaging (Ex vivo DTI) により神経線維の評価を試みた結果、虚血と反対側の内包を通過する神経線維数は、MSC 群で増加が認められた（図 5）。

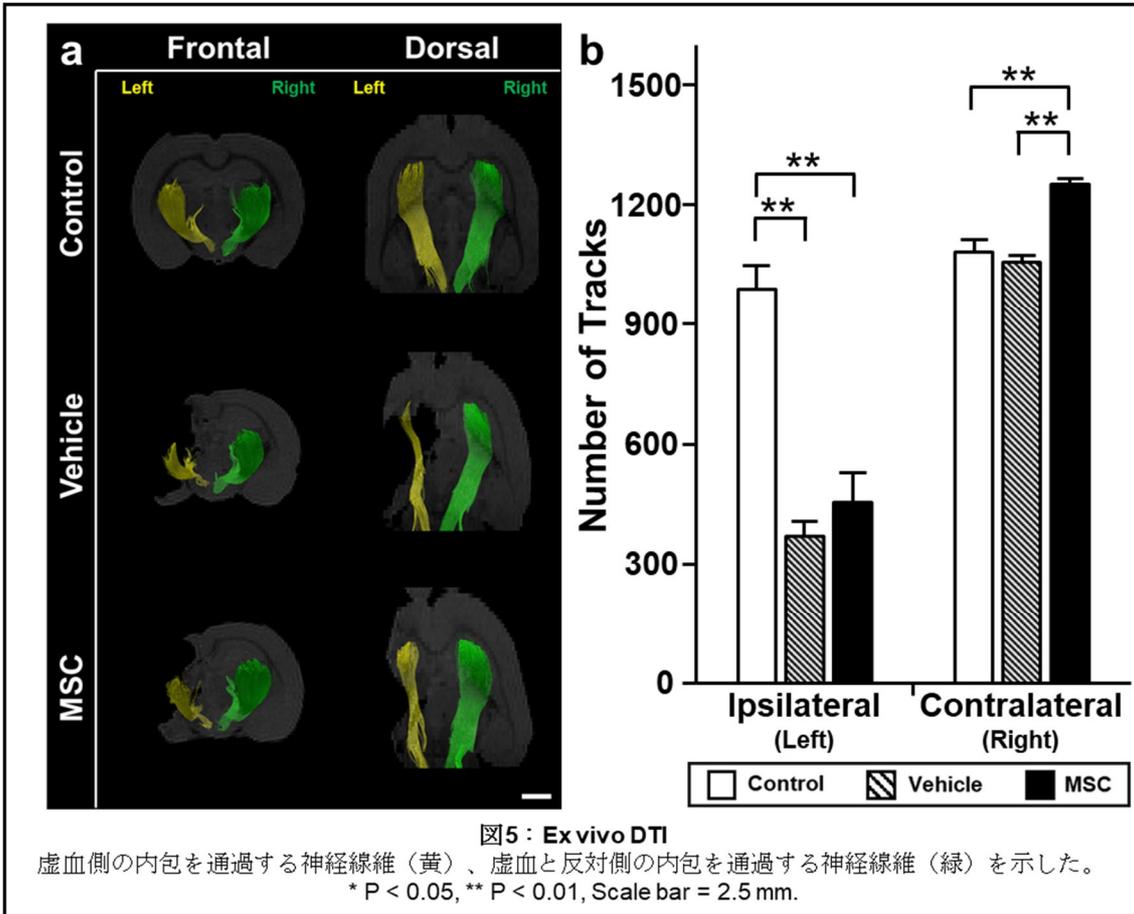


図5: Ex vivo DTI
虚血側の内包を通過する神経線維(黄)、虚血と反対側の内包を通過する神経線維(緑)を示した。
* P < 0.05, ** P < 0.01, Scale bar = 2.5 mm.

これらの結果から、発達脳においては、MSC 投与が障害を受けた組織ではなく、残存する大脳を賦活化する可能性が示唆された。本研究成果により、周産期の虚血性脳疾患に対する MSC の有効性が改めて認識されることとなった。また虚血だけではなく、炎症が関与する、より重症な脳障害においても、MSC 治療が効果的である可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Sakai et al. Functional recovery after the systemic administration of mesenchymal stem cells in a rat model of neonatal hypoxia-ischemia. *J. Neurosurg Pediatr.* 2018;22:513-522.
- 2) Cindy T J van Velthoven et al. Mesenchymal stem cells as a treatment for neonatal ischemic brain damage. *Pediatr Res.* 2012;71:478-481.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
研究分担者	佐々木 祐典 (Sasaki Masanori) (20538136)	札幌医科大学・医学部・准教授 (20101)	
研究分担者	飯塚 裕典 (Iizuka Yusuke) (10869720)	札幌医科大学・医学部・研究員 (20101)	
研究分担者	坂井 拓朗 (Sakai Takuro) (80639229)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	
研究分担者	福村 忍 (Fukumura Shinobu) (30718341)	札幌医科大学・医学部・講師 (20101)	
研究分担者	小林 正樹 (Kobayashi Masaki) (70592715)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	
研究分担者	川崎 幸彦 (Kawasaki Yukihiro) (00305369)	福島県立医科大学・医学部・博士研究員 (21601)	

6. 研究組織（つづき）

	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	本望 修 (Honmou Osamu) (90285007)	札幌医科大学・医学部・教授 (20101)	

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