

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09282

研究課題名(和文) 神経障害性疼痛に対する間葉系幹細胞の治療効果の検討

研究課題名(英文) Investigation of the therapeutic efficacy of bone marrow mesenchymal stem cells for neuropathic pain

研究代表者

福士 龍之介 (Fukushi, Ryunosuke)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：00894065

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：神経障害性疼痛は整形外科で多い愁訴であるが、一般的な治療法では十分な除痛効果が得られない症例も存在する。我々は、脊髄損傷患者に自己骨髄幹細胞(mesenchymal stem cells: MSC) の静脈的投与(MSC治療)を行った症例において、運動機能の改善だけでなく、脊髄障害性疼痛が改善する症例をしばしば経験した。一方、最近では、神経障害は、損傷された神経だけでなく、脳や脊髄といった中枢神経系、全身にも変化をもたらすことが報告されている。従って、神経障害、またそれに伴う疼痛に対するMSC治療は局所に対するものではなく、全身に影響する治療が有効である可能性が高い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究成果の学術的意義は、神経障害性疼痛の発現メカニズムには、末端の疼痛部位への影響に留まらず、疼痛のシグナル伝達における様々なレベルでの関与があり、MSC治療によって、これまでに注目されてこなかった全神経系における変化を、多角的な解析手法を用いて解明しようと企図していることである。この解明は、これまでの損傷局所の修復メカニズムに焦点が当たってきた神経再生治療のメカニズムの狭い概念を覆して、MSC治療は他の神経疾患の治療にまで展開することができるという広い可能性が得られるため、社会的意義が非常に大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Neuropathic pain refers to hyperalgesia, allodynia, or spontaneous pain caused by the hypersensitivity of nerve responses in the nervous system, such as the dorsal horn neurons of the spinal cord, due to nerve damage. Currently, drugs used for neuropathic pain are associated with side effects and other complications, and in some cases, common treatments do not provide sufficient pain relief. We report the therapeutic effects of intravenous mesenchymal stem cell (MSC) administration in various central and peripheral nerve injury models. Therefore, MSC treatment for neuropathy and associated pain is likely to be effective. This study aimed to test whether MSC administration can be an effective treatment for neuropathic pain. Furthermore, comprehensive gene expression analysis was performed to analyse the molecular mechanisms contributing to pain suppression.

研究分野：神経障害性疼痛

キーワード：神経障害性疼痛 骨髄幹細胞 静脈的投与 再生医療

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛の発生には、神経の可塑性 (plasticity) が関与している。全神経系の侵害情報伝達経路に病変や疾患による神経障害が存在すると、末梢神経終末上の侵害受容体の興奮がなくても、脊髄後角神経細胞より上位の神経系に惹起される過敏性の神経応答が惹起され、痛覚過敏、アロディニア、自発痛を来す。近年、**疼痛に関連する上位の神経系である脳のおよび脊髄の変化**に注目が集まっており、視床、体性感覚野、前帯状皮質、前頭前野、島、小脳、吻側延髄内側部、脊髄後角といった箇所の脳内ネットワークの変化、疼痛閾値を下げ、自然発火頻度を上昇させるといった脳機能障害、視床等での T 型カルシウムチャンネルの変化、脊髄後角の神経構造の変化等が、神経障害性疼痛が原因で生じると言われている (Saab CY, 2012)。

一方、我々は、神経損傷に対する MSC 治療を行い、良好な治療効果を報告してきた。MSC の主な治療メカニズムとして、損傷軸索の sprouting や、損傷軸索自身の再生、脱髄軸索の再有髄化などが、協奏的に作用することにより、運動機能の回復に貢献することを明らかにしてきた。さらに最近、脊髄損傷ラットモデルに MSC 治療を行うと、損傷局所だけではなく、**大脳皮質運動野の複数の遺伝子の発現量に変化**を認め、これらの多くが神経再生、plasticity の賦活化に関与する可能性がある遺伝子 (Differentially Expressing Genes: DEGs) であることを報告した (Oshigiri et al., J Neurotrauma. 2019)。我々は、これらの遺伝子 (DEGs) のなかに、**疼痛と関連が報告されている遺伝子**があることを確認しており、**これらの脳で変化のあった遺伝子群は、疼痛のシグナル伝達や、plasticity に関与している**ことが示唆されている。従って、MSC の投与による神経障害性疼痛の改善に、これら遺伝子が関与していることが推測される (Oshigiri et al., J Neurotrauma. 2019)。そのため疼痛発生の原因は、局所のみならず、脊髄、大脳にあると考えられ、これら中枢神経を含めた全身を治療のターゲットにすべきであるとの着想に至った。しかし、これまで我々は MSC 治療の神経障害性疼痛に対する評価は行っていない。一方、既に神経障害性疼痛に関して、申請者の行った腰部神経根絞扼モデル動物を用いた予備実験においては、MSC 治療後に疼痛が抑制される印象を得ていた。

2. 研究の目的

神経障害性疼痛に対して、静脈内投与による MSC 治療が、有効な治療法となり得るかどうかを検証し、その治療メカニズムを解析することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、上記目的を達成するために下記の実験を実施した。モデルは、末梢神経障害モデルとして汎用されている Spared nerve injury モデルを用いた。モデル作製後 3 日目にラットから採集・培養した MSC を経静脈的に投与し、観察期間終了後 (28 日)まで飼育した。なお、対照群には MSC なしの培養液 (Vehicle) を投与した。サンプル採取時期は、モデル作製後 28 日目に行い、サンプル採取部位は、脊髄組織、大脳皮質感覚野とした。

1 MSC 治療により誘導される神経障害性疼痛の抑制効果の解析

MSC 投与前、投与後 3、7、10、14、21、28 日目に行った。

・ von Frey filament test : 後肢足底部中央に filament を用いて機械刺激を与える。

・ Radiant heat test : 後肢足底部中央に熱刺激を加え、逃避反応時間を測定する。

を用いて、覚醒下で von Frey filament による触刺激と heat pad による熱刺激を後肢足底に加え、各刺激に対する逃避反応を観察する。allodynia や hyperalgesia の有無から、疼痛行動の抑制効果を評価した。

2 分子生物学的解析

モデル作製後 28 日目に脊髄組織、大脳皮質感覚野を採取し、RNA を抽出して cDNA を合成した。real time RT-PCR 法を用いて mRNA を定量した。

4. 研究成果

1 MSC 治療により誘導される神経障害性疼痛の抑制効果の解析

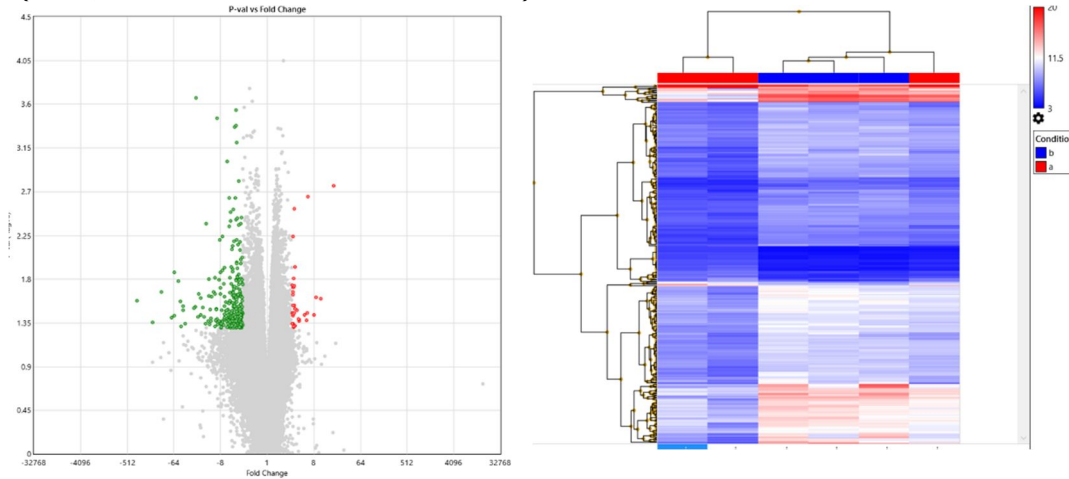
MSC 投与後 7、14、21、28 日目の von Frey filament test、Radiant heat test によって、逃避反応閾値、時間を測定した結果、MSC 投与群は Vehicle 投与群、Sham 群と比較して、両評価法と

もいずれのタイムポイントで改善した。(福土、未発表)

2 分子生物学的解析

MSC 群は vehicle 群に比べて、有意に疼痛改善効果を認めた。網羅的遺伝子解析において、fold change を-4 以下または 4 以上、かつ、p 値 0.05 未満の条件で発現変動遺伝子を抽出した。これらの発現変動遺伝子に対して、遺伝子オントロジー・タンパク質間相互作用解析を行った結果、主に樹状突起スパイン、チャネル関連遺伝子群に発現変化が認められた。

(福土、未発表 以下、脊髄の結果を提示)



以上の結果から、末梢神経障害モデルにおいて、MSC 治療によって局所への影響に加えて、中枢神経系全体へ何らかの再生・保護に関わる治療メカニズムが寄与している可能性が示唆された。これまでに、末梢神経障害性疼痛による「疼痛」に対して、経静脈的に MSC を投与し、疼痛が改善したとの報告はない。さらに MSC 治療による疼痛改善メカニズムの解明により、新たな治療戦略として発展させること等が期待できる。極めてユニークな視点から構築されており、波及効果は極めて高いと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 福士龍之介 佐々木 祐典 本望 修 山下 敏彦
2. 発表標題 神経障害性疼痛に対する骨髄間葉系幹細胞の治療効果の検討
3. 学会等名 第37回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福士龍之介 佐々木 祐典 本望 修 山下 敏彦
2. 発表標題 脊髄障害性疼痛に対する骨髄間葉系幹細胞の治療効果の検討
3. 学会等名 第52回 日本脊椎脊髄病学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryunosuke Fukushi Masanori Sasaki Osamu Honmou Toshihiko Yamashita
2. 発表標題 Investigation of the therapeutic efficacy of bone marrow mesenchymal stem cells for neuropathic pain
3. 学会等名 EURO SPINE Annual Meeting 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福士龍之介 佐々木 祐典 本望 修 山下 敏彦
2. 発表標題 神経障害性疼痛モデルに対する骨髄幹細胞の経静脈的投与後の脊髄後角における遺伝子発現変化の検討
3. 学会等名 第38回 日本整形外科学会基礎学会
4. 発表年 2023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	山下 敏彦 (Yamashita Toshihiko) (70244366)	札幌医科大学・医学部・教授 (20101)	
研究分担者	本望 修 (Honmou Osamu) (90285007)	札幌医科大学・医学部・教授 (20101)	
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	佐々木 優子 (Sasaki Yuko) (80631142)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	
研究分担者	黄金 勲矢 (Ogon Izaya) (10724073)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	
研究分担者	廣田 亮介 (Hirota Ryosuke) (10815434)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	
研究分担者	押切 勉 (Oshigiri Tsutomu) (70754612)	札幌医科大学・医学部・訪問研究員 (20101)	

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	栗原 康太 (Kurihara Kota) (20855803)	札幌医科大学・医学部・研究員 (20101)	
研究分担者	小原 尚 (Obara Hisashi) (20919732)	札幌医科大学・医学部・研究員 (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