

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16627

研究課題名（和文）分化誘導神経系細胞より作製する血管内在神経束を用いた生着型新規再生医療の創出

研究課題名（英文）Development of a Novel Neuroregenerative Medicine Using Differentiated Induced Nervous System Cells Derived from Dental Pulp for Severe Cranial Nerve Injury

研究代表者

渡邊 真哉（Watanabe, Shinya）

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：10866437

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）：神経再建の医療材料として歯髄由来神経系細胞に着目し、ヒト口腔内から採取した間葉組織から誘導した神経幹・神経系細胞から生着型神経束を作製し、重症神経損傷の課題解決にむけた実験を行った。共同研究者らとヒト口腔内間葉組織から得られた間葉系幹細胞から約1週間で神経幹・神経系細胞を分化誘導する方法を開発し、さらには、血管網を内在した神経束を作製しており、ラット顔面神経損傷モデルに対して作成した神経束を移植し電気刺激の活動電位の検出を確認し、顔面神経損傷モデルラットに対する移植実験を行い、基礎的データを得た。また自らの研究を含めて重症脳神経損傷における移植医療のレビューを公表論文としてまとめた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外傷や疾患等による神経損傷に対する神経再建術は、国内外で行われているが、自家遊離神経移植は健常神経を犠牲にする等の点、また神経導管移植は対応可能な神経長や神経の太さに制限がある点や運動神経や混合神経に対するデータが不十分である点など問題がある。顔面神経の切断・高度損傷が生じた場合は、侵襲性が高い一方で十分な表情運動を得難く、依然アンメットメディカルニーズが高い領域である。本研究において原料となる神経幹・神経系細胞を分化誘導する方法、血管網を内在した神経束を作製する方法、モデルラットへ神経束を移植したデータ、重症脳神経損傷における移植医療を整理したレビューは学術的にも社会的にも意義が高い。

研究成果の概要（英文）：We focused on dental pulp-derived cells as a medical material for nerve reconstruction, and conducted experiments to solve the problem of severe nerve damage in order to create a novel regenerative medicine by using a viable nerve bundle made from neural stem and nervous system cells derived from mesenchymal tissue collected from the human oral cavity. We have developed with our collaborators a method to induce differentiation of neural stem/neuronal cells from mesenchymal stem cells obtained from human oral mesenchyme in about one week, and have also produced nerve bundles with an internalized vascular network. We have conducted transplantation experiments on a rat model of facial nerve injury and obtained basic data. We have also compiled a review of transplantation medicine in severe brain injury, including our own research, in a published article.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：神経束 神経再建術 歯髄由来神経系細胞 顔面神経損傷

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

外傷あるいは疾患等による神経損傷に対する神経再建術（自家遊離神経移植、神経導管移植）は、国内で約1万件/年程度行われている。しかしながら、自家遊離神経移植は健常神経を犠牲にすること等が問題点とされ、また神経導管移植は対応可能な神経長や神経の太さに制限があること、運動神経や混合神経に対する十分なデータが存在しないことが問題点とされている。神経損傷のうち脳神経損傷においては、顔面神経の切断・高度損傷が生じた場合は、舌下神経などをドナーとした神経再建術が実施されているが、侵襲性が高い一方で十分な表情運動を得ることが困難であることから、依然課題が大きいのが現状である。顔面神経麻痺は社会的に影響が大きく、アンメットメディカルニーズが高い領域である。また、顔面神経以外の脳神経損傷においては、有効な治療法は存在しておらず、新規治療の開発が囑望されている。

2. 研究の目的

本研究課題においては、これまでに開発した末梢神経用血管内在神経束の作製技術を応用し、脳神経損傷に対する神経移植に十分な長さおよび径の軸索を有する神経束を効率よく作製する技術を確立すること、移植ラットモデルにおける移植神経の生着とホスト神経の軸索伸長による組織学的神経再生及び神経症状の改善の有無を明らかにすること、移植神経の切断や薬剤による機能低下の有無を確認することが研究の目的である。

3. 研究の方法

本研究では、神経束の安定的な作製、作製した神経束の形態的評価と機能評価、動物モデルを用いた移植実験を行う。

計画 神経束の安定的な作製：脳神経用の移植神経束として充足する血管内在神経束の安定的な作製方法を確立する。神経細胞、グリア細胞、血管内皮細胞といった細胞種を準備し、末梢神経用の作製技術を応用することで、脳神経用神経束の簡易で安定的な作製と規格化を行う。

計画 神経束の形態的評価と機能評価：作成した血管内在神経束の形態的評価と機能的評価を行う。血管構造評価としてCD31を用いた評価を行い、軸索、髄鞘、血管網細胞をNF200、DAPI、S100、VWF、MAP2（成熟神経細胞マーカー）、3-tubulin（未成熟神経細胞マーカー）、MBA、Nestin、NeuNで組織学的評価を行う。また、動物モデルへの移植前の電気生理学的評価のコントロールとして、活動電位の評価を行う。

計画 動物モデルを用いた移植実験：大動物への移植実験の前段階として、モデルラットに、脳神経用血管内在神経束を移植し、効果を検証する。末梢神経損傷モデルラット（端々吻合）において、機能改善の確認として下肢運動機能回復を評価するために移植後3カ月まで、毎週歩行軌道解析、Von Frey Filament testでの測定を行う。神経束の生着、ホスト神経との結合などについて、計画のコントロールと同様の評価を行う。そのうち、顔面神経損傷モデルラット（端側吻合）への移植後同様の評価を行い、末梢神経モデルとの比較を行い、げっ歯類での非臨床POC取得を目標とする。

4. 研究成果

神経堤細胞由来の口腔内間葉組織から得られた間葉系幹細胞は、骨髄や脂肪から得られた間葉系幹細胞よりも容易にかつ多量に神経幹・神経系細胞に分化誘導する方法を確立している。口腔内間葉系幹細胞の初代培養細胞から神経系細胞を得るには、通常6週間以上を要するが、新規法では組織採取から神経系細胞を分化誘導するまで3~7日と大幅な時間短縮が可能となった。短期間で分化誘導した神経系細胞の性質と機能の均一化を図るために、細胞認識性カドヘリンマトリックス（Jinnou, et al, Cell Stem Cell, 2018）を利用し、EカドヘリンをFab部分に導入したカドヘリンキメラ抗体でコーティングした培養皿を用いることで、神経系細胞の成熟度が均一化され、かつ移植後に血管新生や細胞分裂を誘導する機能が高い細胞群が得られることを解明した。

脳神経損傷に対する神経移植への応用として、より長く長い神経束を開発する基礎技術改良を進め、電気刺激の活動電位の検出を確認し、顔面神経損傷モデルラット（JAMA Facial Plastic Surgery, Jan 2014, 20-24）に対する移植実験を行っており、基礎的データをえた。

また、現在の重症神経損傷における神経束移植医療の概況をレビューし、レビュー論文として公表した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 渡邊 真哉; 丸島愛樹; 石川 博; 高岡昇平; 豊村順子; 渡邊美穂; 大山晃弘; 武川寛樹; 石川栄一; 松丸祐司	4. 巻 42
2. 論文標題 分化誘導神経系細胞より作製する神経束を用いた顔面神経損傷に対する生着型新規再生医療の創出	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Facial Nerve Research Japan	6. 最初と最後の頁 142-144
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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡邊 真哉; 丸島愛樹; 石川 博; 渡辺憲幸; 高岡昇平; 豊村順子; 渡邊美穂; 大山晃弘; 武川寛樹; 石川栄一; 松丸祐司
2. 発表標題 分化誘導神経系細胞より作製する血管網内在神経束を用いた生着型再生医療研究
3. 学会等名 第46回日本脳神経外傷学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 渡邊真哉, 丸島愛樹, 石川 博, 渡辺憲幸, 高岡昇平, 豊村順子, 渡邊美穂, 大山晃弘, 武川寛樹, 石川栄一, 松丸祐司
2. 発表標題 分化誘導神経系細胞より作製する神経束を用いた生着型新規再生医療の創出
3. 学会等名 第81回日本脳神経外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊真哉, 丸島愛樹, 石川 博, 高岡昇平, 豊村順子, 渡邊美穂, 大山晃弘, 武川寛樹, 石川栄一, 松丸祐司
2. 発表標題 分化誘導神経系細胞より作製する神経束を用いた顔面神経損傷に対する生着型新規再生医療の創出
3. 学会等名 第45回日本顔面神経学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 花井 翔; 丸島愛樹; 渡辺憲幸; 石川 博; 渡邊 真哉; 豊村順子; 大山晃弘; 松丸祐司; 石川栄一
2. 発表標題 ヒト歯髄より作製した血管内在神経束移植による末梢(顔面)神経損傷のための再生医療法の開発
3. 学会等名 第42回NPO法人筑波脳神経外科研究会学術集会
4. 発表年 2024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
---------	---------