

令和元年6月14日現在

機関番号：32666

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15768

研究課題名(和文)急性硬膜下血腫-幹細胞移植モデルを用いた急性期プレコンディショニング治療の確立

研究課題名(英文)Preconditioning treatment for the rat model of acute subdural hematoma with stemcell transplantation

研究代表者

横堀 将司 (Shoji, Yokobori)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70449271

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)：急性硬膜下血腫-外減圧ラットモデルを作成し、そののちにヒト神経幹細胞を移植する研究を行った。無胸腺ラット(F344/NJcl-rnu/rnu, n = 7-10/group)に穿頭を行い自家血を注入することで急性硬膜下血腫ラットモデルを作成し、そののち減圧開頭モデルを作成した。その後 10×10^5 のGFP導入神経幹細胞(hNSC)をステレオ装置にて海馬付近に二か所注入し8週間の生着を得た。rotarodによる行動実験では、4週後で、hNSCを移植した群の保続時間が優位に長い結果となった。また、外減圧表面にシート状に移植した群では、同じく生着は得られたものの、細胞の成熟は得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、神経外傷におけるヒト神経幹細胞の生着を確認できた。また、ステレオ下にIn situ に移植するのみならず、減圧開頭術後の脳表面にシートにて移植することでも生着しうることが明らかになった。神経幹細胞をIn situに移植したほうが生着の割合は高かった。どちらの細胞も4-8週生着することが明らかになり、今後のわが国の脳神経外傷の治療に向けて前進するための見地が得られた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this pilot study was to test feasibility using a rat ASDH decompression model with two clinically relevant transplantation methods. Two different methods, in situ stereotactic injection and hNSC-embedded matrix seating on the brain surface, were attempted. Athymic rats were randomized to uninjured or ASDH groups. Animals in injury group were subjected to ASDH, and received decompressive craniectomy and 1-week after decompression surgery were transplanted with green fluorescent protein (GFP)-transduced hNSCs using one of two approaches. Histopathological examinations at 4 and 8 weeks showed that the GFP-positive hNSCs survived in injured brain tissue. The in situ transplantation group had greater engraftment of hNSCs than matrix embedding approach. Motor function was assessed with rotarod, compared to control group (n = 10). The latency to fall from the rotarod in hNSC in situ transplanted rats was significantly higher than in control rats.

研究分野：脳神経外科 救急科

キーワード：幹細胞移植 頭部外傷 急性硬膜下血腫 減圧開頭術

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- 1) 頭部外傷データバンクによる報告では、急性硬膜下血腫などの局所性脳損傷の割合が急増している。しかし患者の急性期神経保護治療には大きな進展がなく、これら患者転帰の劇的な改善は得られていない
- 2) 近年の技術革新により脳梗塞や脊椎損傷などで神経再生医療の臨床研究がなされ、神経損傷後の慢性期治療として広く期待されている。しかし頭部外傷患者に対する神経移植の臨床研究は皆無であり、基礎から臨床への Translation のための更なる Preclinical Research の必要性がある。
- 3) 2011年に報告された大規模臨床研究(NABIS:H II、BHYPO)のサブ解析結果で、開頭血腫除去術を必要とする局所性脳損傷患者群に対し迅速に脳低温療法を導入することで患者転帰を改善しうる可能性が示された^{3,4}。これらに共通する病態は虚血再灌流損傷であり、虚血再灌流病態をもつ減圧開頭術患者に早期導入脳低温療法を施行することで再灌流後の神経損傷を軽減し患者転帰を改善する仮説が示された。

2. 研究の目的

本研究は集中治療がどのように神経再生医療に貢献しうるか明確にする、当該分野では初めてのコンセプトを持つ研究である。本研究の成果により、現在も効果的な治療法に乏しい神経外傷分野において、急性期から慢性期に至る包括的な治療戦略の確立が期待される。

3. 研究の方法

本研究はラット急性硬膜下血腫-減圧開頭モデルを作成後に血管内冷却システムを用いた急速導入 TTM(積極的平温治療: Intensive Normothermia: IN:37 あるいは脳低温療法: Therapeutic Hypothermia: TH:33)を施行する。1 週後 GFP 導入ヒト神経幹細胞を in situ に移植する。4 週間の行動実験ののち Sacrifice し、神経幹細胞の生着率を GFP/FJB/GFAP 染色により治療群間で比較することで TTM による急性期集中治療が移植細胞環境の最適化に貢献しうるか検討する。研究期間: 3 年間(前 6 か月の準備期間、後 6 か月のデータ解析期間含む)

研究施設: 日本医科大学動物実験施設及びマイアミ大学脳神経外科(Miami Project to Cure Paralysis)

海外共同研究者: Ross Bullock・Shyam Gajavelli

必要个体数: Sprague-Dawley (SD) ラット(雄 300-350g) 80 匹(下記 8 実験群×10 匹。以前の基礎研究⁵)より各群 8 匹を統計学上妥当と考え、経過中 2 割死亡率を勘案したうえで 10 匹としている)

4. 研究成果

まずラットモデルを作成し、細胞移植を行った。ステレオを用いて、局所に hNSC を移植する群、脳表に Seating して移植する群を作成し比較した。どちらも安定したモデルを作成することができたが、In situ に hNSC を移植するほうが強固な生着をえることができた。今後はラット体温を変化させつつ、至適体温管理を明確にしていく予定である。

5. 主な発表論文等

1. Feasibility of Human Neural Stem Cell Transplantation for the Treatment of Acute Subdural Hematoma in a Rat Model: A Pilot Study.

Yokobori S, Sasaki K, Kanaya T, Igarashi Y, Nakae R, Onda H, Masuno T, Suda S, Sowa K, Nakajima M, Spurlock MS, Onn Chieng L, Hazel TG, Johe K, Gajavelli S, Fuse A, Bullock MR, Yokota H. *Front Neurol.* 2019 Feb 12;10:82. doi: 10.3389/fneur.2019.00082. eCollection 2019.

2. Enduring Neuroprotective Effect of Subacute Neural Stem Cell Transplantation After Penetrating TBI.

Kassi AAY, Mahavadi AK, Clavijo A, Caliz D, Lee SW, Ahmed AI, Yokobori S, Hu Z, Spurlock MS, Wasserman JM, Rivera KN, Nodal S, Powell HR, Di L, Torres R, Leung LY, Rubiano AM, Bullock RM, Gajavelli S.

Front Neurol. 2019 Jan 17;9:1097. doi: 10.3389/fneur.2018.01097. eCollection 2018. Review.

3. Unique Uses of Cooling Strategies.

Lyden P, Paul J, Yokobori S, Cuschieri J.

Ther Hypothermia Temp Manag. 2018 Sep;8(3):126-130. doi: 10.1089/ther.2018.29047.pjl.

Epub 2018 Aug 10. No abstract available.

4 . AMPA Receptor Antagonist Perampanel Ameliorates Post-Stroke Functional and Cognitive Impairments.

Nakajima M, Suda S, Sowa K, Sakamoto Y, Nito C, Nishiyama Y, Aoki J, Ueda M, Yokobori S, Yamada M, Yokota H, Okada T, Kimura K.

Neuroscience. 2018 Aug 21;386:256-264. doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.06.043. Epub 2018 Jul 5.

〔雑誌論文〕(計 4 件)

〔学会発表〕(計 10 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：増野 智彦

ローマ字氏名：Tomohiko Masuno

所属研究機関名：日本医科大学

部局名：医学部

職名：講師

研究者番号(8桁): 00318528

研究分担者氏名：須田 智

ローマ字氏名：Satoshi Suda

所属研究機関名：日本医科大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号 (8 桁): 00366733

研究分担者氏名 : 山田 真史奈

ローマ字氏名 : Marina Yamada

所属研究機関名 : 日本医科大学

部局名 : 医学部

職名 : 講師

研究者番号 (8 桁): 70508621

(2)研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 : Ross Bullock

ローマ字氏名 : Shyam Gajavelli

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、研究者個人に帰属されます。