

令和 3 年 6 月 28 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10949

研究課題名(和文)新規バイオマテリアルを用いた脊髄損傷治療の可能性 - 細胞外環境操作と炎症制御解析 -

研究課題名(英文) Possibility of treatments for amelioration of spinal cord injury -Regulation of extracellular environments and inflammation control

研究代表者

武内 恒成 (Takeuchi, Kosei)

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：90206946

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：脊髄損傷治療には根本治療法が無く、iPS細胞治療などの検証が進められる。しかし脊損後には神経の再生能損失よりも、再生阻害因子発現による治療困難性がたとえられる。損傷後の炎症に誘導されるコンドロイチン硫酸(CS)糖鎖発現が神経再生を阻害し(グリア性瘢痕)、さらなる線維化で完全に再生をブロックする。当該研究では、この阻害糖鎖発現を止めることを目的と治療標的として、核酸医薬の開発(臨床へ)を導くことが出来た。さらにこのDDS機構を見出し、炎症時の治療法としての有効性を示すとともに、派生してシナプスコネクターという全く新しい概念での脊損治療の可能性(Science,2020)など、想定外の結果が得られた

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊髄損傷の治療において、再生阻害因子除去および糖鎖発現制御による再生環境整備という観点は新しいものである。とくに研究期間中に発現抑制が可能な核酸医薬を選択し、その機能を検討できたことは治療応用につながるものである(現に、企業主導でのヒト応用を目指した創薬導出に繋がっている)。当初計画していた薬剤デリバリーの機材検討は無くとも効果を発揮すること、炎症における核酸医薬デリバリーの新しい機序を見出した。さらに糖鎖を中心とした解析から、脊髄損傷に対しての全く新しい概念シナプスコネクターの可能性を見出し、これら再生環境整備とシナプス結合を統合した全く新しい展望など当初想定外の発見と結果を示すことが出来た

研究成果の概要(英文)：Injured adult neurons in the mammalian central nervous system rarely regenerate because some of the intracellular and cell-surface environmental factors inhibit axon regrowth. Chondroitin sulfate (CS) is the most abundant and potent exogenous inhibitor of axonal regeneration. We have showed already that KO mice against CS biosynthesis recovered much faster and more completely than do wild-type mice. We try to establish the accurate inhibition systems of CS-expressions in vivo from the drug screening system, to regulate CS-expressions and modifications in the injury area. We selected the drugs (Antisense oligonucleotide: ASOs) to down-regulate the CS-expressions. The recovery of these mice which treated with drug delivery systems reached the levels of satisfactory amelioration comparable to those of KO mice. Taken together, our results indicated that our screened ASOs delivery system is a promising therapeutic target for treatment of the spinal cord injury and brain infarction.

研究分野：神経科学、再生医療、細胞生物学

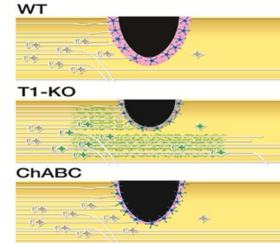
キーワード：脊髄損傷 神経再生 コンドロイチン硫酸 核酸医薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 脊髄損傷の治療には、根本治療法がない。そのため iPS 細胞や幹細胞による移植治療が謳われ、多くのマウス基礎研究とトライアルが進められている。しかし、脊損後には損傷後炎症に続いて生じるコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(CSPG)の発現上昇が神経の再生を阻害し(グリア性瘢痕)、さらに損傷部の Cavitation を取り囲むように線維性瘢痕が形成され、神経再生を完全にブロックしてしまう。この初期過程で、「コンドロイチン硫酸(CS)は本当に神経再生を阻害しているのか?」、さらに「神経再生治療に向けて CS など再生抑制因子の人為的制御は可能か?」を明らかにする目的で、申請者は、CS 基(糖鎖部位)の生合成経路にある最も重要な 2 つの糖転移酵素 Chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyl transferase-1&-2(CSGalNAcT1&T2:以下 T1 および T2 の遺伝子欠損(KO)マウスを世界に先駆けて作製した(Takeuchi *ら*. *Biochem. J*(2011))。この KO マウスによる脊髄損傷モデルから、我々は以下の結果を得てきた(Takeuchi *et al.* *Nature Communication, Advanced material*(2013); Namba *ら* *Neuron, Nature Neurosci*(2014); Tanaka *ら* *Mol. Cell Biol*(2016)等)。

(2) 我々は、昨年度までの科研費(整形外科)および農水省主導の新需要創出プロジェクト“絹タンパク質を用いた医療用新素材研究”(P8 研究費欄参照)から、脊髄損傷時に薬剤をデリバリーするためのバイオマテリアルを活かす研究を進めてきた。フィブリン(絹タンパク質)は古くから外科縫合糸などに用いられ、生体安全性は認められている。このフィブリンを融解・再重合させてスポンジあるいはシート状バイオマテリアルを(素材の形状・強度、気泡径を自在に整形し)成型できる日本独自の技術を当初来分担研究者であった玉田靖(信州大繊維バイオ/前:農水省生物研部長)は備えていた。さらにはトランスジェニックカイクを用いた遺伝子改変によりフィブリンに様々なタンパク質を融合した高機能性の新素材開発も共同で展開している(*J Biomed Mater Res*(2016))。また軟骨再生材料(京大・工・再生研)や角膜(物質材料研)、血管材料(東大&農工大)としての研究も進んでいる。申請者は、フィブリンスポンジによる CS の遺伝子抑制に siRNA をデリバリーすることに成功していた(*Nature Communication* など)。



(図1) CsgalnacT1 抑制による脊髄損傷後回復(中段:抑制因子 CS の発現低下と、HS 上昇による積極的な神経再生促進)

2. 研究の目的

再生阻害因子 CS の発現を KD システムで抑制し再生環境を操作するとともに、この iPS 細胞保持材料としての効果を脊髄損傷モデルで行う。この時の CS 発現制御に関わるサイトカイン等、炎症性の変動の詳細を解析し、さらに脊髄損傷モデルにおける iPS やさまざまな再生用細胞移植に伴う生体内環境変化も検討することで、臨床応用に展開するための基盤研究を行う。とくに再生環境・細胞移植環境を整えるために、バイオマテリアルの可能性や、核酸医薬の DDS を検討する。

(1) すでに開始している CS 合成酵素 T1 siRNA のデリバリー系(DDS)をさらに確立させる。siRNA は生体内での安定性が低いため核酸医薬の DDS としてのさらなる開発を進める。この核酸医薬とバイオマテリアルの融合は基礎研究としては魅力があるが、幅広い実臨床を考えると認可基準が高く実現が難しい。そのため CS 合成阻害剤(合成化合物や他の核酸医薬の可能性)も検討し、DDS 効果と治療効果を評価する。

(2) フィブリン材料を基軸として、さらに再生環境を保持するため、細胞移植再生医療に向けての、材料の必要性を検討する。様々なサイトカインや再生過程の組織解析などから、再生阻害因子 CS 制御の観点から、いかに神経再生環境を維持して、脊髄損傷後の再生に活かすかを検討する。これら基材応用とともに、CS 合成阻害剤の DDS について検討して、実現可能な方法を模索することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) CSGalNAcT1 siRNA(核酸医薬)・合成酵素阻害剤(化合物)のスクリーニングと DDS 効果、siRNA ノックダウンによって治療効果が上がることはすでに実証し、CS 発現を抑えることで、別の糖鎖であるヘパラン硫酸(HS)が誘導され(HS は神経伸長活性を持つことで)再生をさらに促進することも明らかにしてきた。また、フィブリンスポンジを徐放剤として用いた siRNA 投与では損傷部に蛍光標識核酸がデリバリーされることも予備的に確認しており、DDS としての機能を詳細に検討する。また、合成化合物が同様にデリバリー可能かも検証する。具体的には、これまで知られる CS 合成阻害剤や新たな創薬スクリーニングターゲット分子を蛍光標識して DDS 能を検討する。さらに同等の治療効果が上がるかを検証する。CS 発現抑制や、化合物投与抑制を行った際に、フィブリンスポンジを留置したもの、さらには生体材料を用いることなく検討した個体の脊髄損傷部近傍を 1mm 毎に単離し、RNAseq および RT-PCR による網羅的遺伝子発現を行い、炎症性・抗炎症性サイトカイン発現を中心に解析する。

(2) CSGalNAcT1 合成酵素阻害剤あるいは核酸医薬の再スクリーニングとそれらの脊髄損傷後の機能回復効果への検討

siRNA とバイオマテリアルの組合せでの安全性実験とともに、さらにヒト応用を鑑みての、創薬スクリーニングを行う。とくに siRNA からさらに派生してアンチセンスオリゴでの検討や、同時にスクリーニングが進む(AMED による CSGalNAcT1 抑制分子など)の候補で可能性があるものは、当該研究によって基礎レベルでの阻害機能やマウスでの効果検証を開始する。

さらに、神経再生環境を整備するために、当該研究ではコンドロイチン硫酸(CS)の発現を中心に解析を進めるが、さらに周辺の様々な生体内微細環境の詳細を(1)の遺伝子解析とともに検討するとともに検討し、これら新規分子による脊髄損傷回復が望めるかを3年のうちに検討する。またこれまで用い

できたバイオマテリアル(主にフィブロインスポンジ)の平行応用の必要性和その安全性をサイトカインなどの発現解析から比較検討する。

(3) iPS 細胞をはじめとするさまざまな細胞移植と再生環境整備による回復可能性の検討

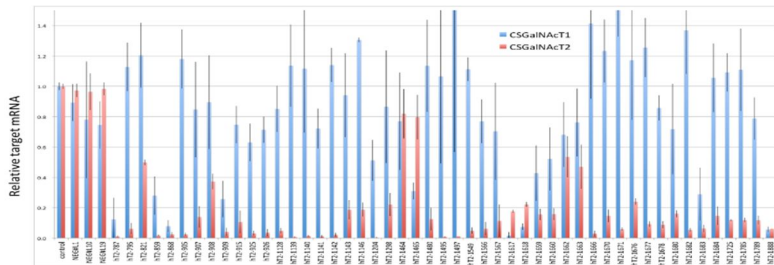
再生阻害因子を抑制したとしても、神経の積極的な回復を促進するためには細胞移植などの手法との併用が望まれる。そのため上記(1)(2)の解析とともに細胞移植実験を行い、その生理機能回復や詳細な組織解析から、安全性実験をマウスラットで推進する。最終的には、マーモセットあるいはサルを用いての解析を数例施行して、これら大型動物でのテストを踏まえてヒト応用を提案する過程までを推進することを計画する。

4. 研究成果

(1) CSGalNacT1 アンチセンスオリゴの発見とその効果検証、再スクリーニングと DDS 効果

研究開始時には、すでに siRNA による T1 酵素発現およびそれに引き続く CS の発現抑制効果をマウス動物実験においても確認はしていたが(Nature Communication など 2014 年報告済)、バイオマテリアルでの薬剤デリバリーとその核酸の安定性を考慮するに、アンチセンスオリゴ(ASO)での発現抑制系の確立を検討した。

当該研究開始時に、フィブロインスポンジゲルでの in vitro および in vivo 安定性を検討したが、siRNA の安定性は良好ではなく 1 週間の維持が難しいことを明らかとしたことによる(データ未発表)。そこで、in cillico にてほかの遺伝子との相動性が低く、かつ CsgalnacT1 だけではなく CsgalnacT2 遺伝子も抑制できる可能性のある配列(おおよそ 24mer の核酸の長さ)を 100 前後選択した。さらにそれらの ASO 配列を合成し、T1/T2 の遺伝子をそれぞれ抑制できるかを、in vitro での RTPCR にて発現抑制率によって検索を行った(下図2)。96 ウェルプレートにての CS 発現量の多い線維芽細胞をターゲットとして、各 ASO でのどの程度の抑制があるかを T1/T2 それぞれの遺伝子プライマーでリアルタイム PCR 計測を繰り返した。



(図2) 候補 ASO による CsgalnacT1/2 それぞれの遺伝子抑制率の比較。

上記の図2からもうかがえるように、T1/T2 双方の遺伝子を抑制する効果の高い ASO が

数種類確認された。これら ASO を 10 種類程度選抜し、さらに上記同様の培養系およびマウスへの過剰量投与による炎症性サイトカイン(IL2,IL6 など)の発現量を検索し、さらにフィブロインスポンジを用いたデリバリー系から、脊髄損傷領域近傍 1mm の組織片での CS の発現低下などを確認した。その結果、1617、2514(配列番号から命名)の 2 種類の ASO は炎症性や毒性などは低く、CS 発現抑制能も高いものとして選択された。

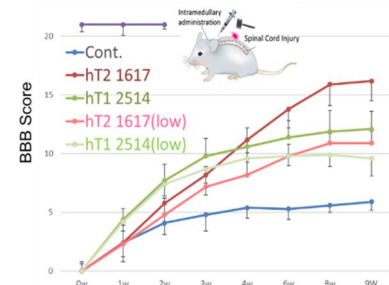
この 2 種類の脊損後の ASO 投与(フィブロインスポンジによる)を行うことで、その組織での機能の解析を、安定性が高くより実用性に近い ASO によって開始することを可能とした。

(2) CSGalNacT1/T2 合成酵素阻害核酸医薬 ASO のスクリーニングとそれらの脊髄損傷後の機能回復効果への検討

上記(1)によって選択された ASO2 種類を中心として、再度モデル動物での脊髄損傷後の生理的回復効果などを、それぞれの ASO の濃度も振りながら検討を行った。まずは、フィブロインスポンジによる安定的投与での回復効果を検証した(紙面の都合データ提示無)。初期の siRNA 投与よりも濃度を低く保てる傾向が伺えたため(siRNA よりも構造上はるかに安定のため)、まずはかなり低濃度から高濃度の安全性含めての直接投与実験繰り返し、この ASO の効果を正確に把握することを行った。とくに、ASO の安定性をさらに高めるため、最近の ASO 安定化就職のうち、とくに肝毒性などが低く安定化も検証されている LNA 修飾 ASO を合成し投与を試みることにしたため、詳細な検討を加えた。まずは、脊髄損傷後マウスの損傷部に損傷直後に 2 種類の ASO をさまざまな濃度で微量インジェクション(1ul 以下)を行うことで数週間のマウスの生理機能回復度の検討を行った。

上記選択された ASO2 種類を、マウス脊髄損傷後に損傷部にインジェクションを行い、その生理機能回復を追跡解析を行った(図3)。これらの ASO 投与によって、濃度依存的な回復が認められ、またこれらマウスにおいて高濃度においても行動や長期にわたる(追跡期間9週間にわたる)毒性などの影響は伺えなかった。組織単離による(1)同様のサイトカイン定量解析においても異常はなかった。

これら ASO 投与によっては、図3に示すように、コントロール(コントロールオリゴ投与マウス)群にたいして明確な生理機能回復を認めた。また、これは従来の siRNA 投与実験と比べても非常に



(図3) 新規アンチセンスオリゴによるマウス脊髄損傷後回復(BMSスコア利用)

高い回復をしめしている(データ未掲載)。創薬としてもこれまでになく有効であることが伺える。

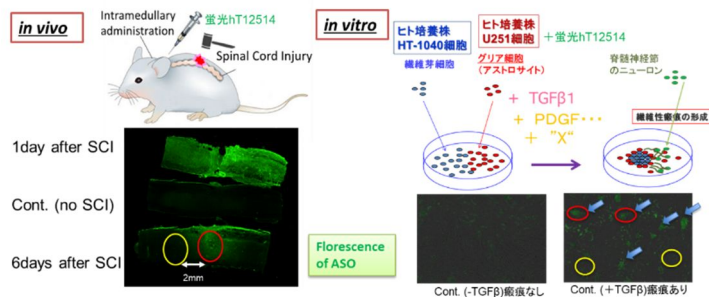
さらに、それぞれの ASO で 2 相性の回復度の違いをしめしており、それはそれぞれの ASO の抑制の効果の違いがあることが明らかとなった。抑制の効果としては、1617 は T1 よりもむしろ T2 抑制効果が高く、最終的には 1617 の方が後半期間での回復度は高いが、初期の効果の立ち上がりは低い。損傷後早期の生理機能回復においては T1 酵素が発現する急激な CS 発現が重要であるが、その後のグリア性瘢痕の形成と維持においては T2 酵素の重要性が示唆された。これは今後の応用に向けて、ロックダウンする創薬の投与タイミングなどにおいて重要な示唆を与えている。

当該図 3 に示す直接投与実験において、従来の siRNA よりも極めて効果的な回復を示したこと、さらに ASO 連続投与の必要はなく損傷後の 1 回投与で有効な回復をみた。その後、フィブロインスポンジによる連続投与実験も試みたが、当該結果を上回ることはなくまた安全性も高かったことから、直接投与を中心としての解析に切り替えることとした。さらに臨床応用を考えるにも、単純かつ有効な系として、ASO 単独投与を中心として解析を進める重要性が高まった。

(3)さまざまな手法と組み合わせた再生環境整備による回復可能性の検討

再生障害因子である CS を抑制したとしても、さらなる細胞移植や損傷部の環境整備の必要性と可能性をさまざまに検討した。当該 ASO 投与とともに各種 iPS 細胞移植あるいは別種の幹細胞移植を数種類検討した。しかしながら、マウス動物モデル実験系では上記図 3 に示した ASO 単独投与とマウスの機能回復を上回る改善をみることはなかった。しかしながら、ASO 投与によって障害因子 CS 発現を抑制しておき、その後に幹細胞をあとで(亜急性期および後期に)移植などの治療はあり得るものと考えられる。これは今後の課題である。

フィブロインスポンジなどの DDS 促進バイオマテリアルなどの生体内利用では、これら損傷後の亜急性期など時間が経った後での、細胞移植等の手術は極めて難しいことが今回の研究からも明らかとなった。バイオマテリアルと損傷部組織の癒着などが大きく、時間経過後の手術がさらに難易度をあげるためである。そのために、ASO の投与方法をさまざまに検証し、脊髄損傷部から比較的離れた部位からのバイオマテリアルでのデリバリーや髄腔内への間接的投与などの実験を繰り返した。その結果、脊髄損傷後直後であれば、遠位への ASO 投与あるいは髄腔内投与によって、我々の LNA 修飾 ASO は損傷部に集中的にデリバリーされることが解った(図 4)。



(図 4) ASO の炎症部位への選択的 DDS (in vivo および in Vitro)

まず、脊髄損傷後離れた頸椎部位からの蛍光標識 ASO は集中的に脊髄損傷部にデリバリーされておりそれは6日後でも維持されていることが解った。なお、この領域で

は確かに CS の発現抑制がされていること、およびさらに遠位の脳などでは CS 発現低下がないことも糖鎖解析などから示されている。この作用を in vitro でも明確にするために、ヒト培養細胞を用いた炎症部・瘢痕形成部の in vitro 再現実験系を行った。結果、細胞凝集塊(瘢痕の人工的再構成部)への選択的な取り込みが起こっていることが明らかとなった。いまだ、その詳細は未解明の点もあり、さらなる検証が必要であるが、サイトカインなどによって誘導され活性化したアストロサイトなどに積極的に安定な ASO が取り込まれて、CS の発現抑制を行っている可能性が示された。

将来的な核酸医薬の DDS を考える際に、炎症部に取り込まれやすいというこの現象は、中枢神経に限らず炎症を制御するためには核酸医薬が極めて有効であることにもつながり、将来的に來な展望を開く結果となった。

(まとめ)当該研究から、脊髄損傷直後の糖鎖制御極めて重要であることをしめすことが出来たが、実際のヒト治療を鑑みるにさらに、亜急性期・慢性期での治療の重要性をとくにここ2年でしめす結果を多く得た。細胞治療時におけるその手術環境整備(癒着や炎症を抑えるための手段)などの担保ためにバイオマテリアルは有効性だけでなく困難さを伴う可能性もある。

研究期間中に、糖鎖制御の観点から、当該研究を含めて新たに、シナプス制御分子による脊髄損傷治療の可能性を大きく世に問うことができた(Science2020)。これは慢性期投与でも機能する可能性が極めて高く、今回この研究で得た CS 制御のための ASO によって初期の再生環境を維持しておき、これら慢性期へ向けての治療薬を追って投与するなどの併用療法の可能性を、当該研究からの想定外の大きな成果として示すこともできた。核酸医薬による DDS の有効性ととも、これらを合わせた治療やその可能性をあらたに模索した研究を開始することが出来た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 da-Yonemochi H, Morita W, Sugiura N, Kawakami R, Morioka Y, Takeuchi Y, Sato T, Shibata S, Watanabe H, Imamura T, Igarashi M, Ohshima H, Takeuchi K.	4. 巻 8(1)
2. 論文標題 Craniofacial abnormality with skeletal dysplasia in mice lacking chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase-1.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep. 2018 Nov 20;8(1)	6. 最初と最後の頁 17134
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-35412-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakanishi K, Niida H, Tabata H, Ito T, Horii Y, Hattori M, Johmura Y, Yamada C, Ueda T, Takeuchi K, Yamada K, Nagata KI, Wakamatsu N, Kishi M, Pan YA, Ugawa S, Shimada S, Sanes JR, Higashi Y, Nakanishi M.	4. 巻 29(9)
2. 論文標題 Isozyme-Specific Role of SAD-A in Neuronal Migration During Development of Cerebral Cortex.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cereb Cortex.	6. 最初と最後の頁 3738-3751
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/cercor/bhy253.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kawasaki A, Okada M, Tamada A, Okuda S, Nozumi M, Ito Y, Kobayashi D, Yamasaki T, Yokoyama R, Shibata T, Nishina H, Yoshida Y, Fujii Y, Takeuchi K,	4. 巻 4
2. 論文標題 Growth Cone Phosphoproteomics Reveals that GAP-43 Phosphorylated by JNK Is a Marker of Axon Growth and Regeneration.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience. 2	6. 最初と最後の頁 190-203.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2018.05.019.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ida-Yonemochi Hiroko, Morita Wataru, Sugiura Nobuo, Kawakami Ryosuke, Morioka Yuki, Takeuchi Yuka, Sato Toshiya, Shibata Shunichi, Watanabe Hideto, Imamura Takeshi, Igarashi Michihiro, Ohshima Hayato, Takeuchi Kosei	4. 巻 8
2. 論文標題 Craniofacial abnormality with skeletal dysplasia in mice lacking chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase-1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17134
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-35412-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Igarashi M, Takeuchi K, Sugiyama S.	4. 巻 17
2. 論文標題 Roles of CSGalNAct1, a key enzyme in regulation of CS synthesis, in neuronal regeneration and plasticity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neurochem Int.	6. 最初と最後の頁 0197-0186
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuint.2017.10.001.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshioka N, Miyata S, Tamada A, Watanabe Y, Kawasaki A, Kitagawa H, Takao K, Miyakawa T, Takeuchi K, Igarashi M.	4. 巻 10
2. 論文標題 Abnormalities in perineuronal nets and behavior in mice lacking CSGalNAct1, a key enzyme in chondroitin sulfate synthesis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol Brain.	6. 最初と最後の頁 47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-017-0328-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hou X, Yoshioka N, Tsukano H, Sakai A, Miyata S, Watanabe Y, Yanagawa Y, Sakimura K, Takeuchi K, Kitagawa H, Hensch TK, Shibuki K, Igarashi M, Sugiyama S.	4. 巻 7
2. 論文標題 Chondroitin Sulfate Is Required for Onset and Offset of Critical Period Plasticity in Visual Cortex.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 12646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-04007-x.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sasakura H, Moribe H, Nakano M, Ikemoto K, Takeuchi K,	4. 巻 130
2. 論文標題 Lifespan extension by peroxidase and dual oxidase-mediated ROS signaling through pyrroloquinoline quinone in <i>C. elegans</i> .	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Cell Sci.	6. 最初と最後の頁 2631-2643
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jcs.202119.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Honda A, Ito Y, Takahashi-Niki K, Matsushita N, Nozumi M, Tabata H, Takeuchi K, Igarashi M.	4. 巻 37
2. 論文標題 Extracellular Signals Induce Glycoprotein M6a Clustering of Lipid Rafts and Associated Signaling Molecules.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Neurosci.	6. 最初と最後の頁 4046-4064
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.3319-16.2017.	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 -

1. 著者名 Suzuki K, Elegheert J, Song I, Sasakura H, Senkov O, Matsuda K, Kakegawa W, Clayton AJ, Chang VT, Ferrer-Ferrer M, Miura E, Kaushik R, Ikeno M, Morioka Y, Takeuchi Y, Shimada T, Otsuka S, Stoyanov S, Watanabe M, Takeuchi K, Aricescu AR, Yuzaki M.	4. 巻 369
2. 論文標題 A synthetic synaptic organizer protein restores glutamatergic neuronal circuits	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 eabb4853
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.abb4853.	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 該当する

1. 著者名 Inada R, Miyamoto K, Tanaka N, Moriguchi K, Kadomatsu K, Takeuchi K, Igarashi M, Kusunoki S.	4. 巻 31
2. 論文標題 Chondroitin sulfate N-acetylgalactosyltransferase-1 knockout shows milder phenotype in experimental autoimmune encephalomyelitis than in wild type.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Glycobiology	6. 最初と最後の頁 260-265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/glycob/cwaa072.	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11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 武内恒成、笹倉寛之、笠原勇矢、小比賀聡
2. 発表標題 核酸医薬による中枢神経損傷への治療展開ー脊髄損傷治療に向けてのドラッグスクリーニングとその応用ー
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroyuki Sasakura, Kosei Takeuchi
2. 発表標題 Neuronal functions with Chondroitin sulfate enhancement by pyroloquinoline quinone and polyphenols.
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池野正史、鈴木伸卓、武内恒成
2. 発表標題 ヒト初代培養細胞へのTERT遺伝子導入による増殖期間の延長効果
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kosei Takeuchi
2. 発表標題 Regulation of chondroitin sulfate gene in vivo, to recovery from spinal cord injury and brain infarction
3. 学会等名 FENS (ヨーロッパ神経化学連合同学会) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroyuki Sasakura, Hiroki Moribe, Kazuto Ikemoto, Ikue Mori, Kosei Takeuchi
2. 発表標題 Lifespan extension and ECM remodeling by dual oxidase-mediated ROS signaling.
3. 学会等名 日本細胞生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武内恒成
2. 発表標題 In vivo regulation of Chondroitin sulfate gene to recovery from Spinal cord injury and brain infarction
3. 学会等名 新学術領域研究合同班会議（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武内恒成
2. 発表標題 In vivo における糖鎖発現酵素・コンドロイチン硫酸合成酵素の発現制御による脊髄損傷の機能回復
3. 学会等名 日本神経組織培養研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kosei Takeuchi
2. 発表標題 In vivo regulation of chondroitin sulfate gene to recovery from spinal cord injury and brain infarction
3. 学会等名 ISN（国際神経学会）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武内恒成
2. 発表標題 脊髄損傷修復に向けての核酸医薬治療の可能性
3. 学会等名 第2回革新的バイオ研究開発シンポジウム（日本核酸医薬学会）（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kosei Takeuchi
2. 発表標題 In vivo regulation of chondroitin sulfate gene to recovery from spinal cord injury and brain infarction
3. 学会等名 ISDN (国際神経発生学会) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kosei Takeuchi
2. 発表標題 アンチセンス医薬を用いた脊髄損傷治療
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 人工興奮性シナプスコネクタとその脊髄損傷処置への使用	発明者 鈴木邦道、武内恒成、 柚崎通介	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-002879	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 コンドロイチン硫酸生合成を阻害するアンチセンス核酸	発明者 小比賀聡、笠原勇矢、 武内恒成	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2017-072315	取得年 2018年	国内・外国の別 国内

〔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	玉田 靖 (Tamada Yasushi) (70370666)	信州大学・学術研究院繊維学系・教授 (13601)	バイオマテリアルの提供と学術的指導

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			
ドイツ	EMBL (ヨーロッパ分子科学連 合)	DZNE (ドイツ神経変性セン ター)	Max Planck Institute	他2機関
英国	オックスフォード大学			