

平成 21 年 3 月 30 日現在

研究種目：若手スタートアップ  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19890192  
 研究課題名（和文） 脊髄損傷に対する ES 細胞移植治療-骨髄間質細胞を用いた腫瘍形成抑制効果の検討-  
 研究課題名（英文） Co-transplantation of ES Cells and Bone Marrow Stromal Cells for Spinal Cord Injury Suppresses Tumor Development  
 研究代表者 松田 良介 (RYOUSUKE MATSUDA)  
 奈良県立医科大学 医学部 助教  
 研究者番号 60453164

## 研究成果の概要：

ES 細胞の未分化細胞からの腫瘍形成を抑制するため、骨髄間質細胞の同時移植による腫瘍抑制効果の検討をおこなった。骨髄間質細胞は神経栄養因子を分泌し、未分化 ES 細胞の神経分化誘導作用により、腫瘍形成を抑制しうることを *in vitro* および *in vivo* 実験にて確認した。ES 細胞移植の臨床応用にむけて、神経分化誘導作用のある骨髄間質細胞同時移植は、腫瘍形成に伴う重篤な合併症を回避する有望な治療法の一つと考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,320,000		1,320,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,220,000	270,000	2,490,000

研究分野：脳神経外科

科研費の分科・細目：若手スタートアップ

キーワード：脊髄損傷、骨髄間質細胞、ES 細胞、共培養、共移植

## 1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷に対する ES 細胞移植治療は、有望な治療方法と期待されている。ES 細胞はその多分化能と自律増殖能が移植細胞源として注目される一方、分化と増殖の完全制御の方法は確立されておらず、ES 細胞移植での未分化細胞による腫瘍形成は臨床応用を図る上で重大な克服すべき問題である。

## 2. 研究の目的

ES 細胞移植での未分化細胞による腫瘍形成を抑制するため、解決策の一つとして神経分化誘導作用を有する骨髄間質細胞の同時移植療法を創案し検討を行った。

## 3. 研究の方法

(1) 移植細胞として、GFP で標識したマウス ES 細胞を至適濃度でない低濃度レチノイン

酸にて分化誘導し、未分化 ES 細胞が残存する神経幹細胞群を調整した (ES 移植細胞)。またマウスの大腿骨から骨髄間質細胞 (BMSC) を採取し、培養した。

(2) マウス脊髄圧挫傷モデルを 3 群にわけ、phosphate-buffered saline (PBS) を移植する PBS-Group、ES 移植細胞のみを移植する ES-Group、ES 移植細胞および骨髄間質細胞を同時移植する ES/BMSC-Group とした。移植後の運動機能評価、移植部位での免疫組織染色を行った。

(3) *in vitro* で骨髄間質細胞の分化誘導能を調べるべく、ES 移植細胞と骨髄間質細胞を共培養し未分化および神経系マーカーを RT-PCR、免疫染色にて検討した。

#### 4. 研究成果

(1) 運動機能評価では ES-Group では移植後 2 週以降で運動機能は低下し、ES/BMSC-Group では徐々に運動機能は改善した。

(2) 組織学的検討では ES-Group では移植部位に腫瘍形成を認めたが、ES/BMSC-Group では腫瘍形成はみられず、免疫組織染色にて ES 細胞は Nestin, MAP2 陽性細胞への分化を認めた。BrdU 標識した骨髄間質細胞は移植部位に生着し移植 6 週後も nerve growth factor を産生していた。

(3) In vitro での非接着性共培養では ES 細胞の未分化マーカーの消失を認め、MAP2 陽性神経細胞の発現を認めた。骨髄間質細胞より分泌される神経栄養因子の神経分化誘導が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1)

著者名 : Matsuda R (14 人中 1 番目)

論文標題 : Co-transplantation of Mouse Embryonic Stem Cells and Bone Marrow Stromal Cells Following Spinal Cord Injury Suppresses Tumor Development

雑誌名 : Cell Transplantation, 2009, 18: in press, 査読有

[学会発表] (計 2 件)

1)

発表者 : 松田良介

発表標題 : Co-transplantation of ES Cells and Bone Marrow Stromal Cells for Spinal Cord Injury Suppresses Tumor Development

学会名 : 2007 Shanghai International Symposium on Stem Cell Research

発表年月日 : 2007.11.6-9

発表場所 : Shanghai

2)

発表者 : 松田良介

発表標題 : 脊髄損傷に対する ES 細胞移植治療の問題点

学会名 : 第 23 回日本脊髄外科学会 発表年月日 : 2008.6.12-13

発表場所 : 宮城県

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

松田 良介 (RYOUSUKE MATSUDA)

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号 60453164

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし