

令和 5 年 5 月 16 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09411

研究課題名（和文）歯髄幹細胞を用いた脳動脈瘤破裂予防の研究

研究課題名（英文）Intracranial aneurysm rupture prevention using dental pulp stem cells

研究代表者

牧野 洋（Makino, Hiroshi）

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10397408

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：現在、未破裂脳動脈瘤の治療は侵襲的な手術療法で行われ、より非侵襲的な薬理学的手法による脳動脈瘤破裂予防法が待たれている。我々は過去に炎症を抑制することが脳動脈瘤破裂を予防することを明らかにしてきたため、抗炎症反応等を有する歯髄幹細胞に脳動脈瘤の破裂予防効果があるのではないかと考えた。

脳動脈瘤を誘導したマウスに対し、歯髄幹細胞の静脈内投与を行ったところ、対象群に対し、歯髄幹細胞投与群は優位に脳動脈瘤の破裂を抑制した。

しかし、コロナ禍による薬品供給の停滞や、臨床負荷の増加により研究に充当する時間が減少したことなどにより、メカニズムの解析が進まず、現在も研究を継続している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳動脈瘤の破裂が最大の原因であるくも膜下出血は、1/3の患者が死亡、社旗復帰率1/3という重篤な疾患である。近年画像診断技術の向上に伴い、未破裂脳動脈瘤が脳ドックなどで発見されることが増えてきたが、治療においては開頭クリッピング術や、コイリングによる塞栓術などの侵襲的な手術療法が主体であり、より低侵襲な薬物による脳動脈瘤治療が待たれている。

本研究は、歯由来の歯髄幹細胞を用いることで、非侵襲的に脳動脈瘤破裂予防を図るものである。歯髄幹細胞は乳歯から得ることができ、また凍結保存しておくことで長期に保存も可能であるため、本人の細胞由来の幹細胞を用いた脳動脈瘤破裂予防法に道を開く研究であると言える。

研究成果の概要（英文）：Currently, unruptured cerebral aneurysms are treated by invasive surgical therapy, and a method for preventing cerebral aneurysm rupture by a more non-invasive pharmacological technique is awaited. Since we have clarified in the past that suppressing inflammation prevents cerebral aneurysm rupture, we thought that dental pulp stem cells, which have anti-inflammatory reactions, may affect preventing cerebral aneurysm rupture.

When dental pulp stem cells were administered intravenously to mice in which cerebral aneurysms had been induced, rupture of the cerebral aneurysms was suppressed more significantly in the group administered dental pulp stem cells than in the control group. However, due to the stagnation of drug supply due to the corona pandemic and the decrease in time devoted to research due to the increased clinical burden, the analysis of the mechanism has not progressed, and research is still being carried out.

研究分野：麻酔・蘇生学

キーワード：脳動脈瘤破裂予防法 マウス脳動脈瘤モデル 歯髄幹細胞

1. 研究開始当初の背景

脳動脈瘤の破裂が最大の原因であるくも膜下出血は、1/3の患者が死亡、社旗復帰率 1/3 という重篤な疾患である。近年画像診断技術の向上に伴い、未破裂脳動脈瘤が脳ドックなどで発見されることが増えてきたが、治療においては開頭クリッピング術や、コイリングによる塞栓術などの手術療法が主体であり、より低侵襲な薬物による脳動脈瘤治療が待たれている。脳動脈瘤の薬理的治療研究が進まない理由の一つに、良い動物モデルが存在しないことがあった。我々はマウスに Deoxycorticosteron-acetate (DOCA) 投与と片腎摘出及び塩分負荷で高血圧を誘導し、エラスターゼ脳槽内投与で脳血管の弾性版に障害を与えることで、脳動脈瘤を発症するマウスモデルを開発し、そのモデルに各種薬剤を投与することで脳動脈瘤の破裂を予防する研究を行ってきた。

2. 研究の目的

歯髄幹細胞を含めた間葉系幹細胞移植は、炎症反応の抑制、損傷組織におけるアポトーシスの抑制、血管新生促進、組織幹細胞の活性化、免疫担当細胞機能の賦活などの効果があることが知られている。我々は過去に炎症を抑制することが脳動脈瘤破裂を予防することを明らかにしてきたため、本研究において、歯髄幹細胞の投与が脳動脈瘤の破裂を予防するか否かを検証し、歯髄幹細胞を用いた、安全で低侵襲的、かつ低コストな脳動脈瘤破裂予防法の確立を目的とした。

3. 研究の方法

マウス脳動脈瘤モデル

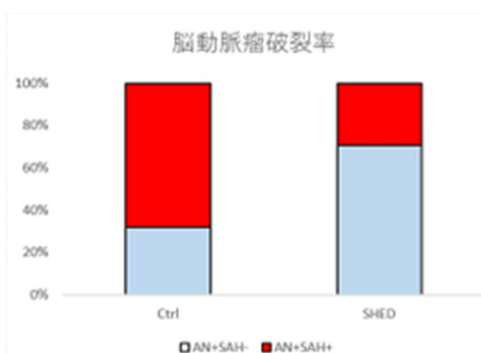
全身麻酔下に 6 週齢 C57BL/6 マウスの片腎摘出を行い一週間手術侵襲から回復させる。一週間後に Deoxycorticosteron-acetate (DOCA) 皮下持続投与と塩分負荷を開始し高血圧を誘導する。全身麻酔下にマウスの頭頂部を穿頭し、ステレオタキックに頭頂部から脳を貫通させる様に注射針を進め、針先をマウス脳槽内を進める。豚膵エラスターゼを脳槽内に一回投与し、脳血管の弾性版に障害を与える。その後連日体重測定と神経症状の観察を行う。体重減少と神経障害の出現を見た個体は即日サクリファイスし、脳動脈瘤及びくも膜下出血の有無を判定する。エラスターゼ投与から 3 週間後には、生き残った全てのマウスを安楽死させ、前述のような判定を行う。

歯髄幹細胞投与

脳動脈瘤を誘導したマウスに対し、誘導後 3 日、7 日で歯髄幹細胞を内頸静脈から静脈内投与することで、脳動脈の破裂予防効果を対象群 (PBS 投与) と比較した。歯髄幹細胞はセルテクノロジ社から提供を受けた凍結ヒト歯髄幹細胞を 6~10 継代培養し、歯髄幹細胞細胞数: 2×10^5 cells/20g Body Weight, 溶媒 100 μ l PBS にて調整した。

4. 研究成果

歯髄幹細胞投与群は対象群と比較して優位に脳動脈瘤の破裂を抑制した。



続いてメカニズムの解析を行う予定であったが、コロナ禍による薬品供給の停滞や、臨床負荷の

増加により研究に当てる時間が減少したことなどにより、メカニズム解析が進まず、現在も研究を継続している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 外村和也、牧野洋
2. 発表標題 Hypercholesterolemia may play protectively against cerebral aneurysms.
3. 学会等名 第95回日本薬理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 外村和也、牧野洋
2. 発表標題 高コレステロール血症が脳動脈瘤に対し保護的に作用する可能性
3. 学会等名 第64回脳循環代謝学会
4. 発表年 2021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
---------	---------