

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09461

研究課題名(和文) 脳梗塞に対する骨髄幹細胞移植による神経回路の再構築における分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mesenchymal stem cell therapy for experimental stroke

研究代表者

本望 修 (Honmou, Osamu)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：90285007

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々は急性期脳梗塞モデルを用いて骨髄幹細胞(mesenchymal stem cell: MSC)の経静脈的投与が治療効果を発揮し、そのメカニズムに両側の脳皮質運動野を結ぶ神経線維が増加し、神経可塑性の亢進があることを報告した。本研究では、神経可塑性の亢進は、局所にとどまらず全脳においても誘導されていることを見出した。MSCによって惹起された全脳における神経可塑性の亢進が治療効果の向上に貢献することが判明したことで、今後の更なる治療方法の開発につながると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、脳梗塞に対するMSC治療によって全脳における神経可塑性の亢進が惹起され、運動機能や高次脳機能の回復に貢献する可能性が高いことを示した。しかも、神経可塑性の亢進は急性期に限らず惹起されるという新たな結果も得られることができた。また、可塑性をさらに高めるために、間隔をあけた複数回投与で、治療効果の上乗せを得ることができた。このように本研究の結果は、適応疾患の拡大、効果のさらなる向上につながることができると考えられ、MSC治療の今後の臨床における有用性を考慮した際における学術的・社会的意義は高いものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we demonstrated that the therapeutic efficacy of intravenous infusion of mesenchymal stem cells (MSCs) was enhanced via induced neural plasticity in the whole brain using MRI diffusion tensor imaging. We also showed that repeated systemic administration of MSCs over 3 weeks resulted in greater functional improvement as compared to single administration and/or vehicle infusion. Administration of MSCs is associated with the promotion of whole interhemispheric connectivity through the corpus callosum even in the chronic phase of cerebral infarction.

研究分野：再生医療

キーワード：骨髄幹細胞

1. 研究開始当初の背景

本邦における要介護の原因として、脳血管障害が大きな割合を占めている。しかし、脳血管障害の後遺症を軽減する治療は乏しく、急いで対処すべき課題となっている。申請者らは、これまでに脳梗塞に対する骨髄間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell: MSC) の経静脈的投与による強い治療効果を報告してきた。MSC の治療メカニズムとして、MSC から分泌にされるサイトカインによる神経栄養作用、血液脳関門の安定化、血管保護と血管新生、脱髄軸索の再有髓化、神経再生などが協奏的に作用することを明らかにしてきた。

我々は先行研究において、functional MRI (fMRI) による脳の活動を解析した結果、脳梗塞モデルに対して MSC を静脈内投与することで、病側とともに健側の大脳皮質を賦活化することを報告した (Suzuki et al., 2013)。脳梗塞モデルに経静脈的に MSC を投与後、対側前肢を刺激して動物実験用 MRI (7T) による fMRI で大脳皮質の活動を測定した結果、MSC 投与群では病側皮質において活動性が亢進しており、さらに健側の皮質においても、大脳皮質の活動性が亢進していることを明らかにした。さらに、神経トレーサーを用いた神経解剖学的手法および Ex vivo MRI Diffusion Tensor Imaging (DTI) により、神経ネットワークの解析を行った結果、MSC 投与後に、両側の大脳皮質運動野を結ぶ神経線維が増加していることを示し、神経可塑性の亢進が惹起されていることを報告した (Nagahama et al., 2018)。

2. 研究の目的

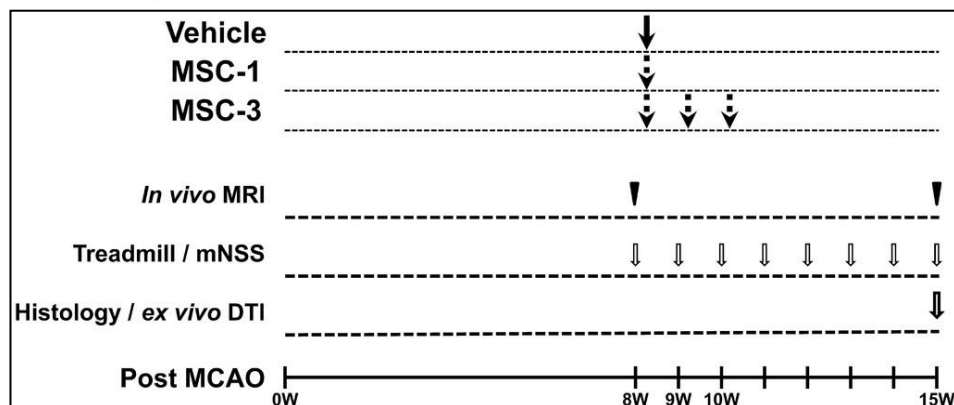
これらの背景から本研究においては、脳梗塞に対する MSC の経静脈的投与によって著しい運動機能の持続的な改善や高次機能の回復までを得る原因として、局所のみならず全脳における神経可塑性の亢進が生じるかどうかを検討することとした。加えて、神経可塑性をさらに亢進させるため、さまざまな工夫を行い治療効果の検討を行った。

3. 研究の方法

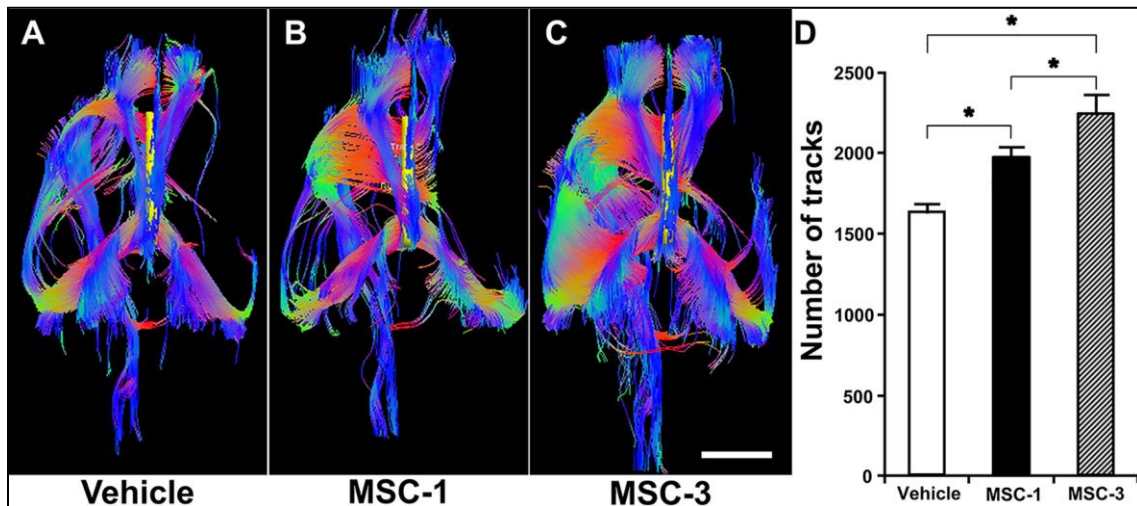
脳梗塞モデルは中大脳動脈永久閉塞 (Middle Cerebral Artery Occlusion : MCAO) モデルを使用した。先端を炙り丸くしたナイロン製の糸を、深麻酔下にした SD ラット (メス、250g-300g) の外頸動脈から内頸動脈へと侵入させて、中大脳動脈を閉塞した。

MCAO 作製後 8 週目に対して、MSC を投与した (MSC-1 群)。さらに 1 週間ごとに計 3 回投与する群も設定した (MSC-3 群)。以下のように in vivo MRI、行動学的解析を行い、15 週の観察期間を経て、組織学的解析および ex vivo DTI を行った。

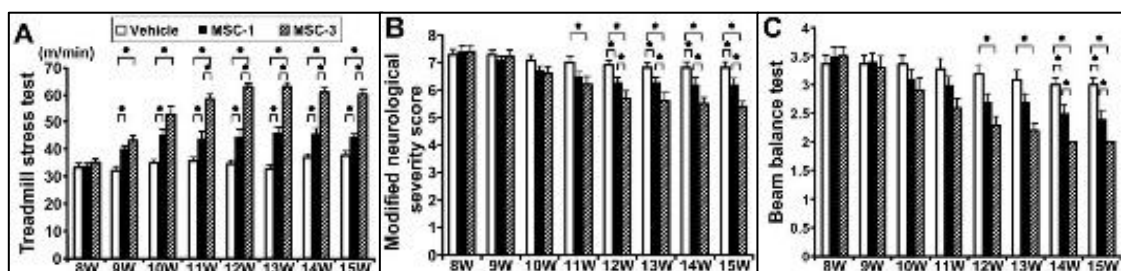
(Takemura et al., 2019 より引用)



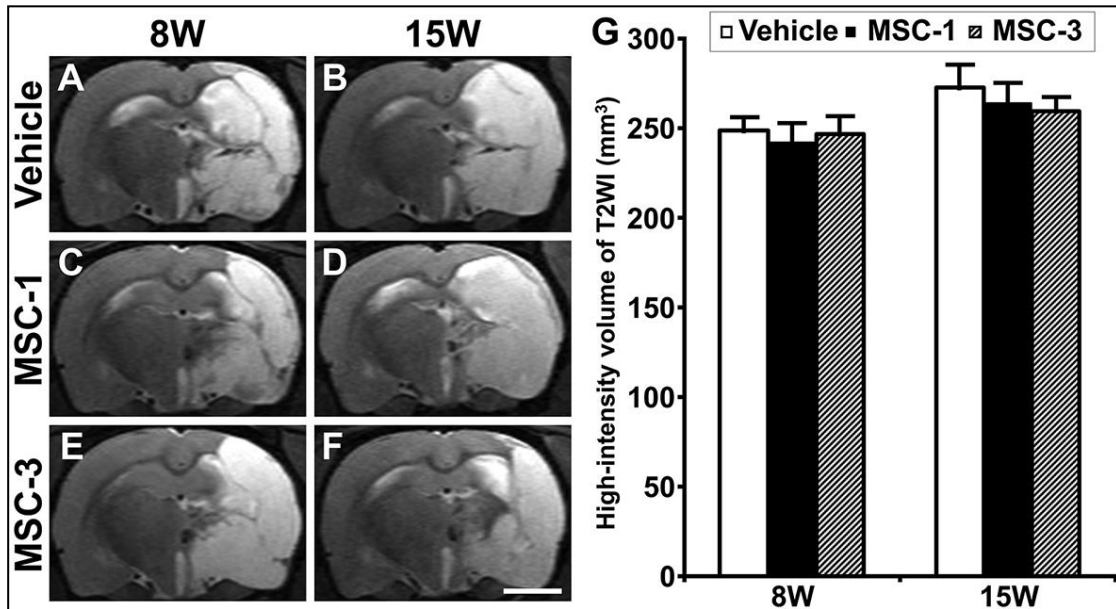
4. 研究成果



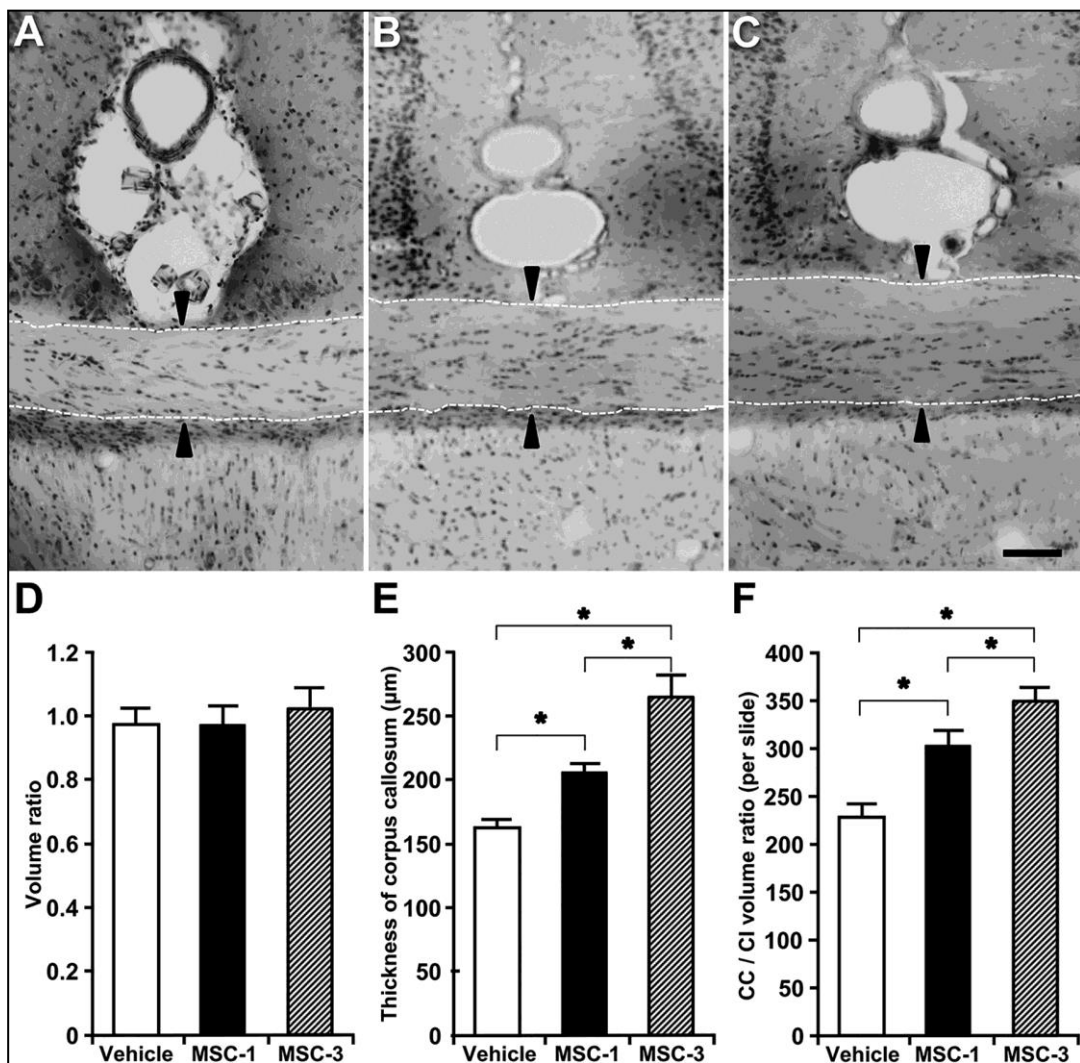
脳梗塞に対する MSC の経静脈的投与によって著しい運動機能の持続的な改善や高次機能の回復までを得る原因として、局所のみならず全脳における神経可塑性の亢進が生じるかどうかを検討するため、動物用 MRI 機を用いて、ex vivo DTI により脳梁を通過する tracks の数を比較解析した結果、MSC 投与群(B, C)では vehicle 群 (A) に比べて有意に多くなった。したがって、脳梗塞に対する MSC の経静脈的投与後に、全脳における神経可塑性の亢進が惹起されていることがわかった。つまり、脳梗塞に対する MSC 治療により、神経回路の再構築が誘導され、神経の可塑性が亢進することが、運動機能や高次脳機能の回復に貢献する可能性が高いことが明らかにすることができた。また、可塑性をさらに高めるために、間隔をあけた複数回投与を行い、これら 3 つの実験群における比較解析の結果、単回投与群 (MSC-1:B) 群および複数回投与群 (MSC-3:C) では vehicle 群 (A) に比べて有意に多くなったが、複数回投与群 (MSC-3:C) が有意に多かった。



運動機能は (A) トレッドミル、(B) modified Neurological Severity Score、(C) ビームバランステストにおいて、単回投与群 (MSC-1) 群および複数回投与群 (MSC-3) が vehicle 群 に比べて有意に改善を認めたが、複数回投与群の回復がさらに高かった。

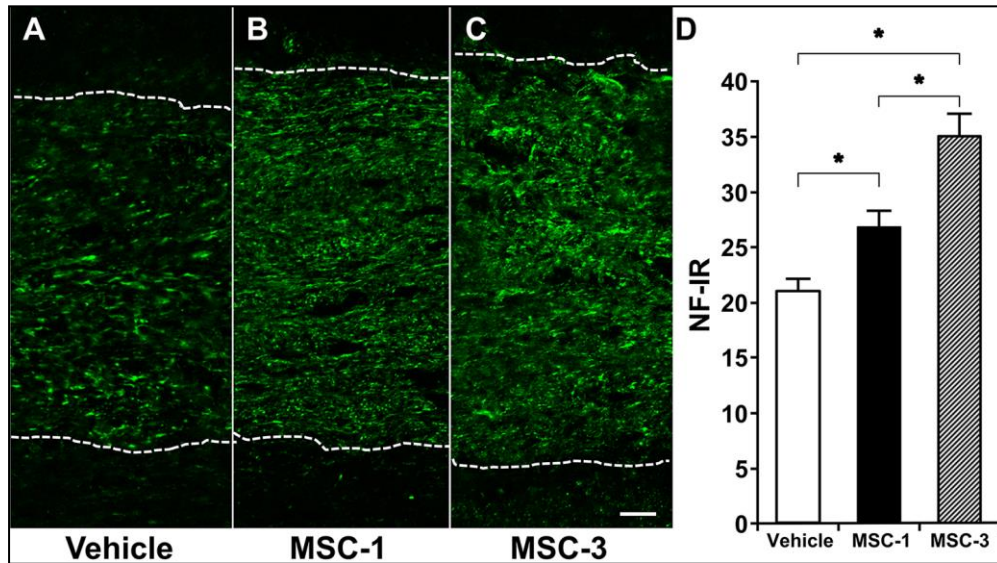


In vivo MRIによる脳梗塞の体積の評価において、投与前(8W)および観察期間終了後(15W)の脳梗塞の体積は、vehicle群、単回投与群 (MSC-1)群および複数回投与群(MSC-3)で差はなかった。

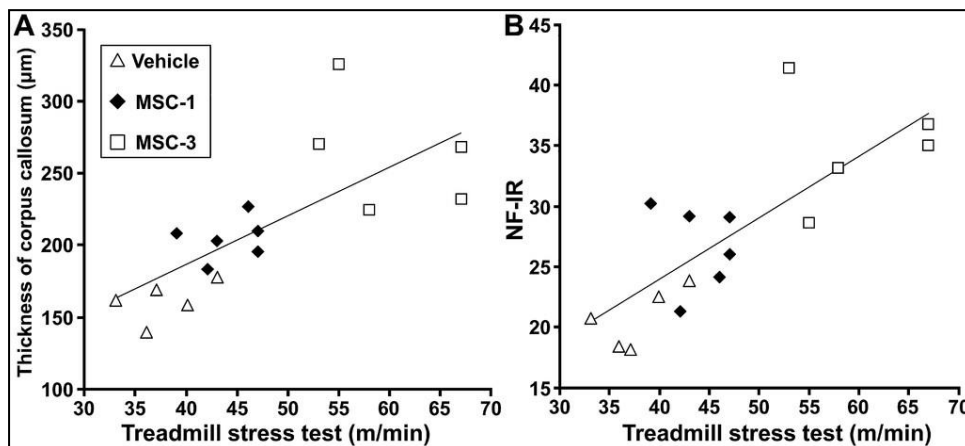


脳梁の厚さをニッスル染色で解析した結果、単回投与群 (MSC-1 : B)群および複数回投与群

(MSC-3 : C)では vehicle 群 (A) に比べて有意に脳梁が厚くなったが、複数回投与群がさらに厚かった。



脳梁の抗 Neurofilament 抗体による免疫組織学的解析においても、Neurofilament の発現は単回投与群 (MSC-1 : B) 群および複数回投与群 (MSC-3 : C) では vehicle 群 (A) に比べて有意に高くなったが、複数回投与群 (MSC-3) がさらに高かった。



運動機能(トレッドミル)と脳梁の厚さ(A)と Neurofilament の発現 (B) をプロットした結果、高い相関を認めた。

以上より、脳梗塞に対する MSC の経静脈的投与後に、神経可塑性の亢進が局所の神経回路に留まらず全脳においても惹起されていることがわかった。つまり、脳梗塞に対する MSC 治療により、神経回路の再構築が誘導され、脳全体の神経の可塑性が亢進することで運動機能や高次脳機能の回復に貢献する可能性が高いことが明らかにすることができた。そのうえで、MSC 治療によって脳全体の神経可塑性の亢進が惹起されることを踏まえて、可塑性をより高めることにより、さらに治療効果を向上させるため、間隔をあけた複数回投与を試みた結果、治療効果の上乗せを得ることができた。また、MSC の経静脈的投与によって誘導される全脳の可塑性の亢進は、急性期の脳梗塞に限らず、慢性期脳梗塞や他疾患に対する適応の拡大にも展開することが期待できると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0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 Kiyose Ryo, Sasaki Masanori, Kataoka-Sasaki Yuko, Nakazaki Masahito, Nagahama Hiroshi, Magota Hirotohi, Oka Shinichi, Ukai Ryo, Takemura Mitsuhiro, Yokoyama Takahiro, Kocsis Jeffery D., Honmou Osamu	4. 巻 149
2. 論文標題 Intravenous Infusion of Mesenchymal Stem Cells Enhances Therapeutic Efficacy of Reperfusion Therapy in Cerebral Ischemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 World Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 e160 ~ e169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.wneu.2021.02.056	査読の有無 無
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 Takemura Mitsuhiro, Sasaki Masanori, Kataoka-Sasaki Yuko, Kiyose Ryo, Nagahama Hiroshi, Oka Shinichi, Ukai Ryo, Yokoyama Takahiro, Kocsis Jeffery D., Ueba Tetsuya, Honmou Osamu	4. 巻 Publish Before Print
2. 論文標題 Repeated intravenous infusion of mesenchymal stem cells for enhanced functional recovery in a rat model of chronic cerebral ischemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 1 ~ 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2021.8.JNS21687	査読の有無 無
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8件（うち招待講演 8件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 本望修
2. 発表標題 わが国の再生医療の現状と未来
3. 学会等名 第92回日本整形外科学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本望修
2. 発表標題 "再生医療等製品の先駆け指定制度 自家骨髄間葉系幹細胞"
3. 学会等名 第25回日本遺伝子細胞治療学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本望修
2. 発表標題 脳梗塞と脊髄損傷の再生医療
3. 学会等名 第92回日本整形外科学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本望修
2. 発表標題 神経再生医療の現状と展望
3. 学会等名 令和3年度春季群馬県医学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 本望修
2. 発表標題 Cell therapy for CNS diseases
3. 学会等名 "第13回日本北欧放射線医学シンポジウム・第16回北欧日本画像情報シンポジウム（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 本望修
2. 発表標題 再生医療（神経細胞）
3. 学会等名 第47回日本産婦人科医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 本望修
2. 発表標題 中枢神経の再生治療について
3. 学会等名 第28回小児集中治療ワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 本望修
2. 発表標題 骨髄間葉系幹細胞による再生医療
3. 学会等名 第9回慢性期リハビリテーション学会（招待講演）
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
研究分担者	佐々木 祐典 (Sasaki Masanori) (20538136)	札幌医科大学・医学部・准教授 (20101)	
研究分担者	小野寺 理恵 (Rie Onodera) (60393328)	札幌医科大学・医学部・客員講師 (20101)	
研究分担者	岡 真一 (Oka Shinichi) (70789453)	札幌医科大学・その他部局等・講師 (20101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	佐々木 優子 (Kataoka-Sasaki Yuko) (80631142)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	

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			
米国	Yale University			