

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K18477

研究課題名（和文）プロテオーム解析を用いた慢性虚血性疼痛の機序解明と患者病態に沿った動物モデル確立

研究課題名（英文）Establishments and evaluations of clritical limb ischemia animal models

研究代表者

苅部 綾香（Karibe, Ayaka）

順天堂大学・医学部・助手

研究者番号：60834322

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：近年の糖尿病罹患率の増加に伴い、重症下肢虚血患者数も増加している。しかしながら、既存の動物モデルは患者の病態もモデルに沿っておらず、治療法の開発の為に、新規モデルの確立は喫緊の課題であった。本研究では、この課題の解決を目指し、重症下肢虚血の革新的な動物モデルを確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまで再現が困難であった重症下肢虚血の患者病態に沿った動物モデルを確立した。これにより、重症化のメカニズム解明や、新規治療法の開発につなげられる可能性が高いことから、学術的、社会的意義が高いと考える。

研究成果の概要（英文）：We established a new animal model of critical limb ischemia. In the future, this new animal will reveal the mechanisms of critical limb ischemia.

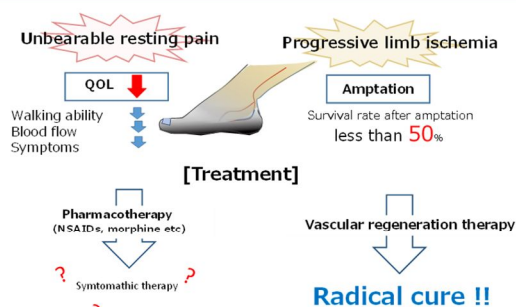
研究分野：再生医療

キーワード：再生医療 重症下肢虚血

1. 研究開始当初の背景

糖尿病罹患者の増加に伴い、重症下肢虚血患者も増加の一步を辿る中、細胞移植による血管再生療法が開発された。その中で、患者のQOL低下を誘発する疼痛に関して、細胞移植直後が軽減されるという報告が多くあったが、メカニズムが不明であった。

Critical Limb ischemia (CLI) and chronic pain



- Peripheral arterial disease (PAD), which causes a variety of severe systematic diseases such as cardiovascular disease, is gradually increasing as societies age. Especially, if blood flow to the peripheral tissues becomes severely restricted in PAD, critical limb ischemia (CLI) can develop. The mortality rate of CLI is the same as that of some types of cancer
- The treatment of CLI is a serious challenge. Resting pain of intractable wounds and ulcers are highly debilitating. The only options available are palliative care and amputation, and survival in the year following surgery is <50%. The development of more effective limb-conservation treatment and pain relief is thus needed to improve the quality of life of CLI patients

2. 研究の目的

本研究では、これまで確立されていない重症下肢虚血患者の病態に沿った動物モデルの確立および、細胞移植後の疼痛軽減メカニズムの解明を目的としている。

Mono nuclear cells Quality and Quantity Culture; MNC-QQc

- ① MNC-QQ culture is ex vivo serum free suspension culture for one week with five different cytokines (SCF, TPO, IL6, VEGF, Flt3) (Masuda *et al.*(2012))
- ② MNC-QQc can expanded the number of CD34 positive (marker for EPC) and CD206 positive cells (marker for M2 angiogenic and anti-inflammatory macrophage) (Masuda *et al.*(2013)).
- ③ MNC-QQc cells has 30 times higher vasculogenic potential than MNC.



We are performing Phase 1 clinical study to investigate the safety of MNC-QQc therapy for non-healing wounds for more practical simple, minimal invasive and effective vascular and tissue regenerative therapy.

3. 研究の方法

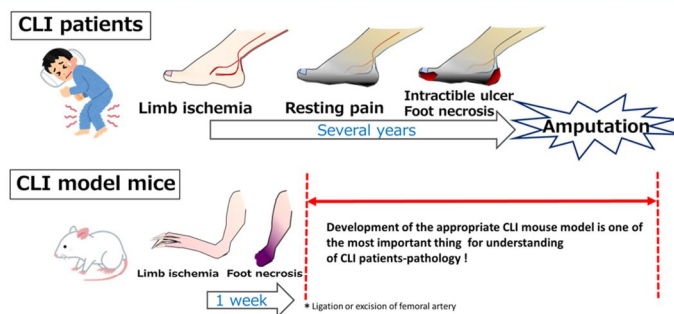
マウス右後肢の動静脈結紮、切除および脂肪切除など9通り行い、下肢虚血モデル作成を行う。経過観察、痛覚テスト、トレッドミルテストを実施し、どのモデルが重症下肢虚血患者と近い動態になるか観察した。また、対照群、細胞移植群共に脊髄を採取し、分子生物学的手法を用いて痛み関連因子、炎症性マーカーなどの発現を確認した。

4. 研究成果

本研究により、これまで確立されていなかった重症下肢虚血動物モデルの作出が可能となった。また、重症下肢虚血患者の治療に対する細胞移植時に副次的に起こる疼痛軽減作用については、メカニズムが不明であったが、炎症マーカーの変化などから、細胞移植によって疼痛反応が軽減するということが明らかとなった。

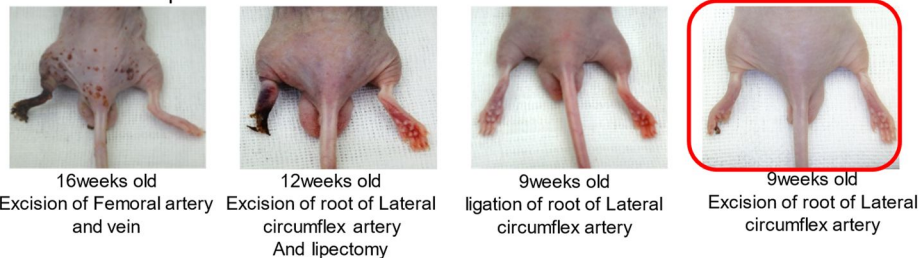
Experiment① the pain relief effect of MNCQQ cells

Result① Development of appropriate CLI model mice

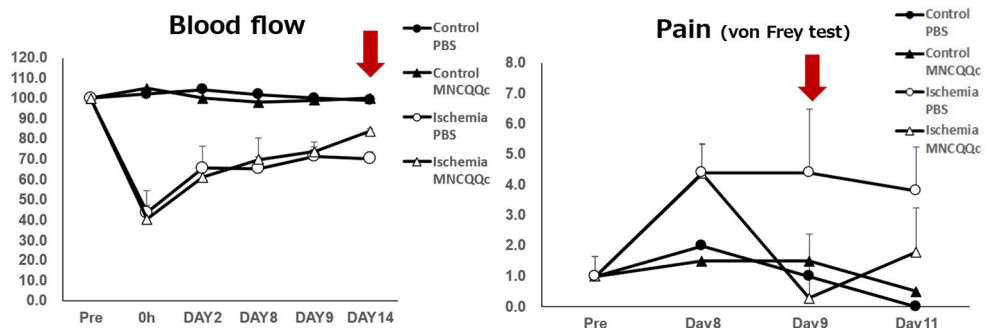
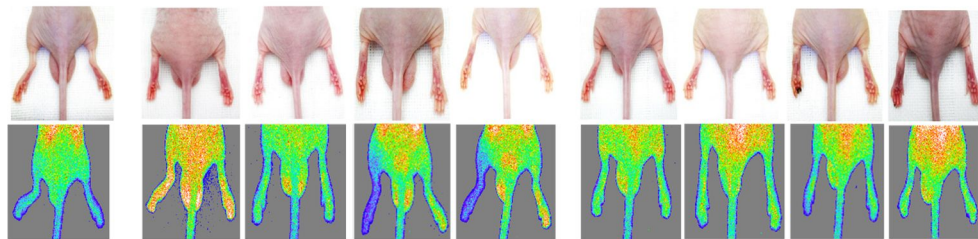


Tried 10 variations of ligation and excision of mouse limb blood vessels

* 1 week after operation



Limb ischemia and Pain



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Rica Tanaka, Rie Ito-Hirano, Satoshi Fujimura, Kayo Arita, Hiroko Hagiwara, Tomoya Mita, Masayoshi Itoh, Hideya Kawaji, Takasuke Ogawa, Hiroataka Watada, Haruchika Masuda, Takayuki Asahara, Hiroshi Mizuno	4. 巻 10
2. 論文標題 Ex vivo conditioning of peripheral blood mononuclear cells of diabetic patients promotes vasculogenic wound healing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem cells translational medicine	6. 最初と最後の頁 895,909
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 ITsubameNishikai-Yan Shen, Makiko Kado, Hiroko Hagiwara, Satoshi Fujimura, Hiroshi Mizuno, Rica Tanaka	4. 巻 18
2. 論文標題 MMP9 secreted from mononuclear cell quality and quantity culture mediates STAT3 phosphorylation and fibroblast migration in wounds and fibroblast migration in wounds	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 464,471
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------