

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09361

研究課題名(和文) 脊髄損傷急性期に対する間葉系幹細胞静脈投与に対する脊髄腸相関に関する研究

研究課題名(英文) Spine-gut relationship in the treatment of spinal cord injury with stem cell

研究代表者

関 俊隆 (Seki, Toshitaka)

北海道大学・医学研究院・客員研究員

研究者番号：80241446

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)：脊髄損傷における羊膜由来間葉系幹細胞の急性期静脈内投与は、脊髄直後より生じる腸の機能障害が運動機能の改善に先駆けて改善し、腸からのバクテリアの全身への侵入(bacterial translocation)を防ぐ効果がある事が示された。脊髄損傷による二次性の炎症反応を抑える効果が急性期静脈内投与にはあると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊髄損傷に対する羊膜由来間葉系幹細胞の作用機序の一つとして腸-脊髄相関が関与する事が初めて証明された。今まで明らかにならなかった重要な基礎情報が得られた事で、今後の再生医療の発展に大きく寄与する事が出来たと考えている。これらを踏まえて細胞を供給した企業との間で臨床研究に進む話が進んでおり、本科研の成果によって実用化の道筋を得る事が出来た点も非常に意義が深いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Intravenous AMSC administration during the acute phase of SCI rescues both spinal damage and intestinal dysfunction. Reducing bacterial translocation may contribute to decreasing systemic inflammation.

研究分野：脳神経外科

キーワード：脊髄損傷 間葉系幹細胞 腸-脳相関

## 1. 研究開始当初の背景

### A) 脊髄損傷に対する細胞治療補背景

#### 1. 脊髄損傷と現状の治療法の限界

脊髄損傷は転落や交通外傷などによって脊髄が傷つくことで発症する。本邦において年間 5000 人が新たに受傷し下肢の麻痺・感覚障害、膀胱直腸障害など重度の後遺症を残す。他の神経疾患（脳梗塞やパーキンソン病など）と比較し、交通事故等による若年での発症が多く、罹病後に長期間の社会的サポートが必要になる。損傷した脊髄そのものを還元させることは現在の医学では不可能であり、新規的な治療方法の開発が待たれる。その中で機能回復を促進しうる再生医療に大きな期待が寄せられている。

#### 2. 間葉系幹細胞 (MSC) の脊髄損傷に対する回復機序

多くの研究が先行する「脳梗塞」に対する間葉系幹細胞の回復機序は、「間接効果である保護効果」と「直接効果である分化」の2つに分けることが出来る。保護効果はさらに「ダメージ軽減」と「回復支援」に分けることが出来るが、「脳梗塞急性期」に細胞を投与する（多くは静脈投与）手法は「ダメージ軽減」を目指しており、栄養因子による炎症制御や過剰な免疫応答の抑制が主たる目的となる。一方「脳梗塞亜急性期」に細胞を投与する（静脈・局所の両方が存在）場合は「回復支援」つまり、損傷細胞の貪食亢進や血管新生などがメインのターゲットとなり、既に炎症もほぼ収束した「脳梗塞慢性期」においては投与細胞の神経系もしくは血管系への分化による新たな神経機能の回復が主たるターゲットとなる。本研究は脊髄損傷急性期に対して幹細胞移植を予定しており、目指す回復機序はダメージ軽減であると考えられる。

B) 未解決の重要な課題：幹細胞静脈投与による脊髄-腸相関の関係について「腸は全身免疫のセンター」近年、脊髄損傷を含む中枢神経疾患において腸内細菌叢 (Gut-microbiota) の乱れが更なる炎症を惹起し、脊髄損傷の回復を遅らせているとの報告が相次いでいる (Kegerl et al. JEM 2016, Connor et al., J Neurotrauma, 2019)。これは脊髄損傷を例にすると腸管自律神経調整障害によって、適切な蠕動運動が阻害されることで、クロストリジウム属等の嫌気性菌が増殖すること、腸管透過性の亢進が生じて細菌の血中移行 (bacterial translocation) が生じることなどが原因と考えられている。一方で炎症性腸疾患 (クローン病、潰瘍性大腸炎、移植後腸炎) の領域において MSC の腸管内もしくは静脈投与によって、炎症の制御が得られることは以前より報告されており (Parekkadan et al. Ann Rev Biomed Eng. 2010, Onishi et al. Cell Transplant 2015) 間葉系幹細胞が腸内環境を改善させることが示されている。この2つを統合して検討すると脊髄損傷急性期に MSC を静脈投与することは、今までの報告されている肺に集積した幹細胞から分泌される栄養因子や細胞外小胞体 (エクソソーム) 効果、幹細胞の脾臓集積後の免疫制御、損傷脊髄への細胞到達と神経細胞分化以外にも腸管免疫抑制効果による可能性が考えられた。しかし現在までこの着眼点で行われた研究は存在しない。

## 2. 研究の目的

近年、全身の免疫センターとしての機能を有する腸管と他臓器の関連が注目されており、脊髄損傷においても腸管との関連 (脊髄-腸相関) が報告されているが、幹細胞投与がこの相関にどのように関与しているかは未だ明らかになっていない。本研究では、急性期脊髄損傷に対する羊膜由来間葉系幹細胞 (AMSC) 静脈投与が、「脊髄-腸相関」に与える影響を検討した。

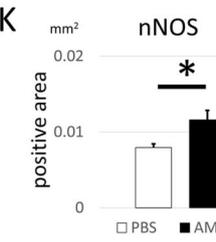
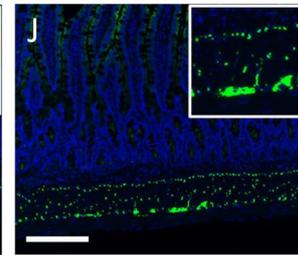
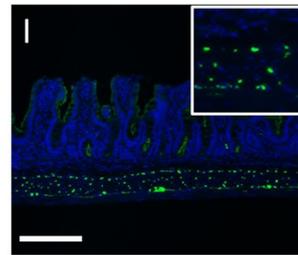
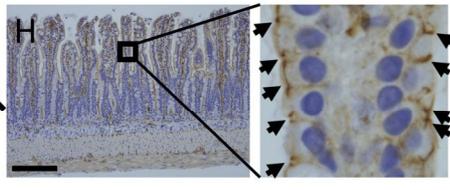
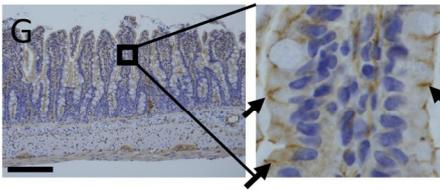
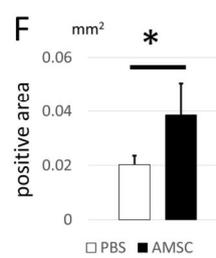
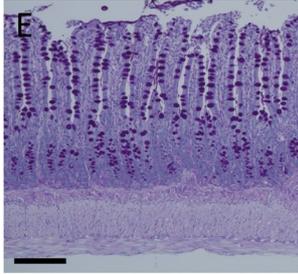
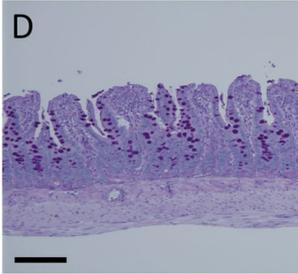
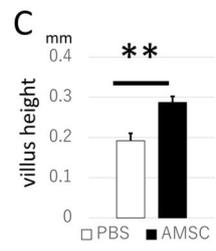
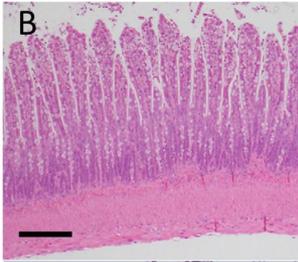
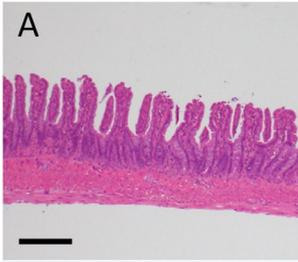
## 3. 研究の方法

Sprague Dawley ラットを用い、Th6/7 高位で、クリップ圧挫により脊髄損傷モデルを作成した (n=116)。脊髄損傷の翌日、一定以上の麻痺を認めたラットに対し、無作為にヒト AMSC (1x10<sup>7</sup> 個, A 群) または生理食塩水 (C 群) を尾静脈投与した。AMSC の分布は、XenoLight DiR で標識し、Fusion で in-vivo imaging を行った。腸管評価は3日後と2週間後に、運動機能評価は4週間後までを行い、その後に病理学的検討を加えた。

## 4. 研究成果

AMSC は1週間後まで主に肺と肝臓に集積していたが、急性期には脊髄内にも確認された。A 群はC 群に比較し、脊髄損傷3日後以降で回腸の絨毛構造の改善を認めた。運動機能は2週以降、A 群で有意に改善し、病理学的評価においても、損傷部位の縮小および炎症細胞浸潤が減少していた。

本研究の結果から、脊髄損傷により回腸絨毛構造が悪化するが、羊膜細胞投与により、運動機能回復に先立って回腸絨毛構造が改善することが明らかとなった。脊髄損傷後に bacterial translocation を生じることが過去に報告されており、これは炎症に伴う二次損傷を惹起すると考えられる。腸管透過性を改善して全身性の炎症を抑制することが、脊髄損傷に対する羊膜細胞投与の作用機序の一つであると考えられる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takamiya Soichiro, Kawabori Masahito, Yamazaki Kazuyoshi, Yamaguchi Sho, Tanimori Aki, Yamamoto Koji, Ohnishi Shunsuke, Seki Toshitaka, Konno Kotaro, Tha Khin Khin, Hashimoto Daigo, Watanabe Masahiko, Houkin Kiyohiro, Fujimura Miki	4. 巻 17
2. 論文標題 Intravenous transplantation of amnion-derived mesenchymal stem cells promotes functional recovery and alleviates intestinal dysfunction after spinal cord injury	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0270606
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0270606	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
研究分担者	大西 俊介  (Ohnishi Shunsuke)  (10443475)	北海道大学・医学研究院・准教授   (10101)	
研究分担者	川堀 真人  (Kawabori Masahito)  (50399870)	北海道大学・大学病院・特任准教授   (10101)	

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
---------	---------