

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09494

研究課題名(和文) 脊髄損傷慢性期に対するMuse細胞移植

研究課題名(英文) Muse cell transplantation for spinal cord injury in chronic phase

研究代表者

國府田 正雄 (Koda, Masao)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：50361449

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)：脊髄損傷慢性期に対して有効な治療法は確立されていない。慢性期脊髄損傷に対するMuse(Multilineage differentiating Stress Enduring)細胞移植の有効性確認を目的とした。C57BL6マウス8週齢雌を全身麻酔下に脊髄圧挫損傷モデルを作成、術後6週に細胞移植をおこなった。Muse細胞を尾静脈より静脈内注入移植した、移植後マウスの後肢運動機能を、Basso mouse scoreにて経時的に評価し、組織切片にて組織修復の確認を行った。慢性期のMuse細胞移植では行動学的・組織学的評価とも、脊髄損傷の治療効果は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊髄損傷に対するMuse細胞移植の臨床応用に際して、適切な投与時期を検討するための重要な基礎データとなる。すなわちヒト脊髄損傷患者においては受傷後早期～数週間程度の時期が適切であると思われる(マウスの脊髄損傷後6週は人間で言えばおそらく数か月後に該当すると言われているため)。あるいは慢性期脊髄損傷に対しては細胞移植単独ではその効果に限界があることを示唆するともいえよう。

研究成果の概要(英文)：Effective treatments for chronic spinal cord injury have not been established. The aim of this study was to investigate the effectiveness of Muse (Multilineage differentiating Stress Enduring) cell transplantation for chronic spinal cord injury. An eight-week-old female C57BL6 mouse was subjected to spinal cord contusion injury under general anesthesia, and cell transplantation was performed six weeks after the surgery. Muse cells were transplanted via intravenous injection through the tail vein. The locomotor function of the mice after transplantation was evaluated longitudinally using the Basso mouse score, and tissue sections were examined to confirm tissue repair. Both behavioral and histological evaluations did not demonstrate therapeutic effects of Muse cell transplantation in chronic spinal cord injury.

研究分野：脊髄損傷

キーワード：脊髄損傷 再生医療 細胞移植 多能性幹細胞

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳・脊髄からなる中枢神経系は一度損傷されると再生しないため、脊髄損傷患者さんの麻痺は生涯に渡り遺残し、日常生活動作・社会生活の障害に苦しむこととなる。しかし近年の神経科学および幹細胞生物学の劇的な進歩により、幹細胞の移植等により損傷脊髄内に再生に適した環境を導入することで再生が得られる可能性が示されつつあり、世界各国で臨床試験が開始または計画されている。

脊髄損傷は受傷後急性期から亜急性期、そして慢性期へと続く時間経過のなかで病態が複雑に変化する。急性期には外力による一次損傷をトリガーする炎症・blood spinal cord barrierの破綻・neuronや oligodendrocyteの細胞死などの生体反応である二次損傷が惹起され、障害範囲が拡大していく。亜急性期は急性期の炎症が収束し慢性期になる前の端境期とされる。細胞移植に適した時期は亜急性期とされ、現在施行中（または計画中）の細胞移植療法の殆どは亜急性期に行われている。慢性期になると損傷中心部は空洞を形成し、その周囲に密に集簇した astrocyteからなるグリア瘢痕は物理的に再生を阻害するのみならず周囲に軸索再生阻害因子を分泌し化学的にも再生を阻害している。このため脊髄損傷慢性期に対して有効な治療法は未だに確立されていない。

一方で、脊髄損傷急性期の全身的合併症は近年の医学の進歩によりかなりの率コントロール可能になってきており、脊髄損傷患者さんの生命予後は非常に伸延しているため、麻痺を抱えたまま長期間生活する慢性期患者数が増加し、我が国に約10万人の慢性期脊髄損傷患者がいるとされる。急性期・亜急性期のみならず慢性期脊髄損傷に対する新規治療法開発が切望されるゆえんである。

Multi-lineage differentiating Stress Enduring cell (Muse) 細胞は出澤が発見した生体に内在する非腫瘍性の多能性幹細胞であり、ほぼすべての組織の結合組織や骨髄、末梢血に存在している (Kuroda, Dezawa, PNAS, 2010)。ヒト線維芽細胞やヒト骨髄間葉系細胞、脂肪由来幹細胞などの市販の間葉系細胞からも単離することができ、自発的に、またはサイトカインの誘導により単細胞から体を構成する要素である外胚葉系、中胚葉系、内胚葉系の細胞に分化することができる。さらに、この3胚葉性の分化能は自己複製可能である。多能性幹細胞の関連遺伝子の発現を認めるが、腫瘍性に関連する遺伝子は体細胞レベルと同等で低く、テロメラーゼ活性も低く抑えられているため、無限増殖を行わない。従って Muse 細胞は生体に移植されても腫瘍形成の危険が極めて低く、安全性の懸念が低い。ラット脊髄損傷モデルを用いた実験で有効性が確認され、現在すでに急脊髄損傷（亜急性期）を対象とした治療が開始されている。現在までのところ慢性期脊髄損傷に対する Muse 細胞の治療効果については検証されておらず、本研究にて有効性を明らかにできれば、治療への道りを一歩前進させることが可能となる。

2. 研究の目的

慢性期脊髄損傷に対する Muse 細胞移植の治療効果を明らかにすること。

3. 研究の方法

C57BL/6マウス雌8週齢を使用。全身麻酔下に第9胸椎椎弓切除ののちInfinite Horizon impactor (Precision, KY) を用い損傷強度70kdyn の脊髄圧挫損傷モデルを作成。損傷後6週にMuse細胞を尾静脈からの静脈注射により移植。Basso Mouse scaleを用いて後肢運動機能を評価。組織切片を作成しヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色や髄鞘染色であるLuxol Fast Blue染色にて組織修復の確認をおこなった。

4. 研究成果

行動学的・組織学的解析とも、Muse 細胞移植による有意な回復は認めなかった。慢性期脊髄損傷に対しては Muse 細胞移植は効果が乏しかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Koda Masao, Hanaoka Hideki, Fujii Yasuhisa, Hanawa Michiko, et al.	4. 巻 144
2. 論文標題 Randomized trial of granulocyte colony-stimulating factor for spinal cord injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain	6. 最初と最後の頁 789 ~ 799
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/brain/awaa466	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 Shimizu Tomoaki, Koda Masao, Abe Tetsuya, Shibao Yosuke, Kono Mamoru, Eto Fumihiko, Miura Kousei, Mataka Kentaro, Noguchi Hiroshi, Takahashi Hiroshi, Funayama Toru, Yamazaki Masashi	4. 巻 22
2. 論文標題 Correlation between osteoarthritis of the atlantoaxial facet joint and a high riding vertebral artery	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders	6. 最初と最後の頁 406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12891-021-04275-9	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 Mataka Kentaro, Koda Masao, Funayama Toru, Takahashi Hiroshi, Yamazaki Masashi	4. 巻 13
2. 論文標題 Sudden, Transient Intraoperative Hypotension During the Use of the Cantilever Technique for Correction of Adult Spine Deformity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cureus	6. 最初と最後の頁 e13835
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7759/cureus.13835	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 Takahashi Hiroshi, Aoki Yasuchika, Inoue Masahiro, Saito Junya, et al.	4. 巻 22
2. 論文標題 Characteristics of relief and residual low back pain after discectomy in patients with lumbar disc herniation: analysis using a detailed visual analog scale	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders	6. 最初と最後の頁 167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12891-021-04015-z	査読の有無 有
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 Kubota Shigeki, Kadone Hideki, Shimizu Yukiyo, Koda Masao, Miura Kousei, Takahashi Hiroshi, Watanabe Hiroki, Marushima Aiki, Hada Yasushi, Sankai Yoshiyuki, Yamazaki Masashi	4. 巻 88
2. 論文標題 Adjustment effect during shoulder abduction training with the Hybrid Assistive Limb in a patient with postoperative C5 palsy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 197 ~ 204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jocn.2021.03.042	査読の有無 有
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 Tatsumura Masaki, Gamada Hisanori, Okuwaki Shun, Eto Fumihiko, Nagashima Katsuya, Ogawa Takeshi, Mammoto Takeo, Hirano Atsushi, Koda Masao, Yamazaki Masashi	4. 巻 22
2. 論文標題 Factors associated with failure of bony union after conservative treatment of acute cases of unilateral lumbar spondylolysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders	6. 最初と最後の頁 75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12891-020-03940-9	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 Saito Junya, Koda Masao, Furuya Takeo, Maki Satoshi, Ijima Yasushi, Kitamura Mitsuhiro, Miyamoto Takuya, Orita Sumihisa, Inage Kazuhide, Hasue Fumio, Fujiyoshi Takayuki, Kamiya Koshiro, Ikeda Yoshikazu, Nakajima Fumitake, Hashimoto Mitsuhiro, Noguchi Hiroshi, Takahashi Hiroshi, Yamazaki Masashi, Ohtori Seiji	4. 巻 15
2. 論文標題 Segmental motion at the peak of the ossification foci is independent risk factor except for mal-alignment and thick ossification foci for poor outcome after laminoplasty for cervical ossification of the posterior longitudinal ligament: analyses in patients with positive K-line, lordotic alignment, and lower canal occupying ratio	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Surgery and Research	6. 最初と最後の頁 407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13018-020-01903-3	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 Miura Kousei, Kadone Hideki, Koda Masao, Abe Tetsuya, Funayama Toru, Noguchi Hiroshi, Mataka Kentaro, Nagashima Katsuya, Kumagai Hiroshi, Shibao Yosuke, Suzuki Kenji, Yamazaki Masashi	4. 巻 29
2. 論文標題 Thoracic kyphosis and pelvic anteversion in patients with adult spinal deformity increase while walking: analyses of dynamic alignment change using a three-dimensional gait motion analysis system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Spine Journal	6. 最初と最後の頁 840 ~ 848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00586-020-06312-y	査読の有無 有
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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 國府田正雄
2. 発表標題 Muse細胞を用いた脊髄損傷に対する脊髄再生医療
3. 学会等名 第51回日本脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2022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	古矢 丈雄 (Furuya Takeo) (00507337)	千葉大学・医学部附属病院・講師 (12501)	
研究分担者	出沢 真理 (Dezawa Mari) (50272323)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	
研究分担者	山崎 正志 (Yamazaki Masashi) (50281712)	筑波大学・医学医療系・教授 (12102)	
研究分担者	高橋 宏 (Takahashi Hiroshi) (80597047)	東邦大学・医学部・講師 (32661)	

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