

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09131

研究課題名(和文) 骨髄幹細胞治療における機能活性モニタリングと機能予後バイオマーカーの開発

研究課題名(英文) Functional monitoring in cellular therapy with MSC

研究代表者

中村 秀之 (Nakamura, Hideyuki)

札幌医科大学・医学部・特任講師

研究者番号：10799125

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)：脳梗塞などの神経疾患に対する自己骨髄間葉系幹細胞(mesenchymal stem cells: MSCs)の経静脈的投与によって機能回復が得られることが分かってきた。我々は、各種神経疾患に対して自己MSCの経静脈的投与による医師主導治験を行っている。本研究では、医師主導治験に参加している患者から採取したサンプルを用いた経時的なBDNFの測定を行った結果、BDNFの測定が可能であった。さらにMSC治療により、運動機能、高次脳機能、ADLなどの機能回復が得られる傾向があり、BDNFは機能予後との関連を示すバイオマーカーとしての可能性があることが示唆され、さらなる研究の推進が必要であると思われた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、医師主導治験に参加している患者から採取したサンプルを用いた経時的なBDNFの測定を行った結果、BDNFの測定が可能であった。実臨床において、投与されたMSCの機能活性モニタリングは重要であり、さらに治療予後との関連が明らかになれば、波及効果も高い。本研究によって、脳梗塞に対するMSC治療におけるBDNFの経時的なモニタリングが、予後予測のバイオマーカーとなりうる可能性が得られたことで、本研究成果の学術的意義や社会的意義は高いと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Intravenous administration of autologous bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) for neurological diseases such as cerebral infarction has been shown to restore function. We are conducting investigator-initiated clinical trials using intravenous infusion of autologous MSCs for various neurological diseases. In this study, we measured BDNF over time using samples from patients participating in an investigator-initiated clinical trial. Furthermore, MSC treatment tended to result in functional recovery in motor function, higher brain function, and ADL, suggesting that BDNF may be a potential biomarker associated with functional prognosis, and further research is warranted.

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

我々は、過去 20 数年の基礎研究における良好な結果を踏まえ、自己骨髄間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells: MSCs) を脳梗塞患者に対して経静脈的に投与する臨床研究を行い、安全性の確認および良好な結果を得たことを踏まえて、札幌医科大学では、脳梗塞患者に対する自己 MSC の経静脈的投与 (MSC 治療) による細胞療法の医師主導治験を進めている。

MSC 治療の治療効果は、脳由来神経栄養因子 (brain derived neurotrophic factor: BDNF) などの神経栄養因子による神経栄養作用、神経保護作用をはじめとする複数の治療メカニズムが、多段階・協奏的に発揮することにより誘導されることが判明しており、臨床上の神経脱落症状も、ほぼこれと平行して回復することがわかってきた。

神経栄養因子のひとつである BDNF は、神経細胞によって合成され、神経組織に多く存在し、神経細胞の生存・成長・シナプスの機能亢進などの神経細胞の成長を調節する脳細胞の増加には重要な役割を果たすことが知られており、MSC の静脈内投与によって、損傷部位での BDNF が上昇することが明らかになっている (Osaka et al., 2010)。

我々は、ラット脳梗塞モデル (中大脳動脈閉塞モデル: middle cerebral artery occlusion: MCAO) を用いた実験を行った。Sprague Dawley ラット (雌、8 週齢) に MCAO を作製し、6 時間後に MSC を経静脈的に投与した結果 (対照群には培養液を投与) 行動学的機能の改善、および梗塞部位の体積の減少を観察した。従って、これまでの先行研究同様に、MSC 投与による治療効果があることを確認した。同モデルに対し、MSC 投与後 3 日目に脳 (梗塞側) と血液 (血清および血漿) を採取し、それぞれの BDNF 濃度を ELISA により測定した結果、脳組織中の BDNF 濃度は MSC 群で有意に高値であり ($p < 0.05$) 血漿中 BDNF 濃度も MSC 群において有意に高値であった ($p < 0.05$)。一方、血清中 BDNF 濃度においては MSC 投与群と対照群で有意な差は認められなかった。有意差の認められた MSC 群の脳組織中 BDNF 濃度と血漿中 BDNF 濃度には正の相関が認められた ($r = 0.65$)。以上のことから、血漿中 BDNF は、血清中 BDNF に比べて、脳梗塞時に投与された MSC の動向をより反映するものと考えられ、血液中 BDNF を測定する際、血清よりも血漿中の BDNF 濃度を測定する方が妥当であり、投与された MSC の機能的活性度を血漿中 BDNF 濃度がより反映する可能性を示唆した (Nakamura et al., 2017)。

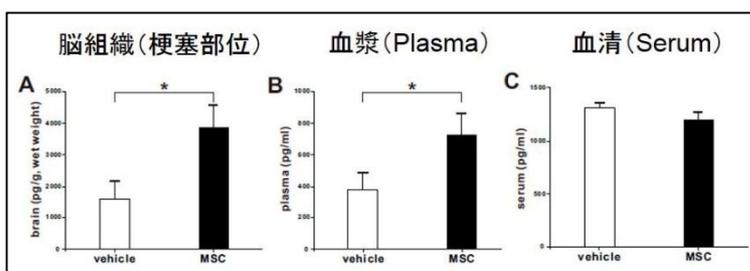


図 1. MCAO に対して MSC 投与後 3 日目に脳組織と血液を採取し、それぞれの BDNF 濃度を ELISA により測定した結果、脳組織中および血漿中 BDNF 濃度は、MSC 群において有意に高値であったが ($p < 0.05$) 血清中 BDNF 濃度は有意な差は認められなかった。
(Nakamura et al., 2017)

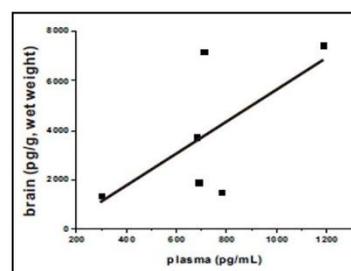


図 2. MSC 群の脳組織中 BDNF 濃度と血漿中 BDNF 濃度には正の相関が認められた ($r = 0.65$)。
(Nakamura et al., 2017)

2. 研究の目的

実臨床において、投与された MSC の機能活性モニタリングは重要であり、さらに治療予後との関連が明らかになれば、波及効果も高い。従って、血漿中の BDNF のモニタリングや、他の新しいバイオマーカーによって、機能活性モニタリングのみならず機能予後予測が可能となれば、非常に有益と考えられる。

本研究の目的は、血漿中 BDNF のモニタリングが、MSC 治療における予後予測のバイオマーカー

となりうるかを検討することである。これまでに、神経疾患に対する高精度のバイオマーカーの開発に注目が集まってきた中で、MSC 治療における MSC の機能活性や機能予後に特化したバイオマーカーに関する研究はない。我々は、既に血漿中 BDNF が MSC の投与を受けた生体内における機能活性の指標になりうることを明らかにしてきたが(Nakamura et al., 2017)、本研究により、機能予後との相関を詳細に検討することにより、血漿中 BDNF を脳梗塞に対する新しい機能予後を示すバイオマーカーとしての有効性を検証することを最終的な目的とした。

3. 研究の方法

医師主導治験患者の血漿中 BDNF 測定

これまでに、札幌医科大学附属病院神経再生医療科を中心に施行している以下の医師主導治験に参加した入院患者を対象とした。

STR01-01：脳梗塞患者に対する自家骨髄間葉系幹細胞の静脈内投与 二重盲検無作為化比較試験（検証的試験）

STR01-04：慢性期脊髄損傷患者に対する自家骨髄間葉系幹細胞の静脈内投与（Phase ）

STR01-05：慢性期脳卒中患者に対する自家骨髄間葉系幹細胞の静脈内投与（Phase ）

STR01-08：慢性期脳損傷患者（脳卒中以外）に対する自家骨髄間葉系幹細胞の静脈内投与（Phase ）

STR01-09：筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者に対する自家骨髄間葉系幹細胞の静脈内投与（二重盲検無作為化比較試験）

上記医師主導治験のために入院した患者から、経時的に採血を行い、血漿を分離し、MSC 投与前、投与 4 日、9 日、30 日、最終評価日に ELISA 法にて BDNF を測定した。BDNF E-max immunoassay system (Promega) を用いた。

4. 研究成果

医師主導治験患者の血漿中 BDNF 測定

サンプルを得ることができた症例からは、ELISA 法を用いた血漿中 BDNF の経時的な測定が可能であった。

また、STR01-08 試験では、特に脳脊髄液中の BDNF を測定した結果、MSC 治療後に増加する症例が認められた。

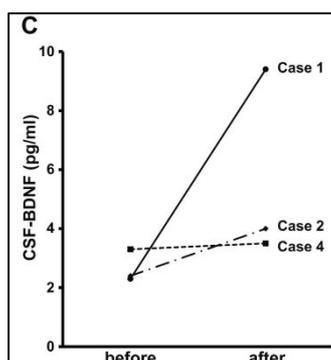
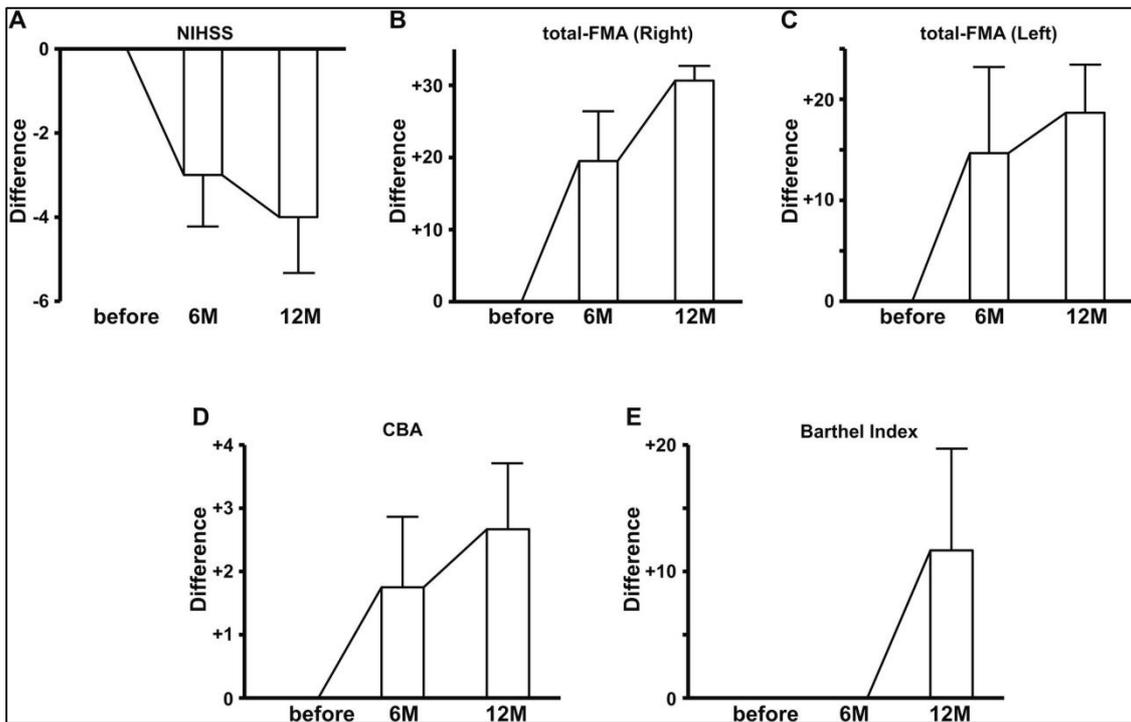


図 3. 重症頭部外傷患者に対し MSC 治療の前後で脳脊髄液中の BDNF を測定した結果、MSC 治療前に比べて治療後に増加している症例が認められた。
(Yamaki et al., 2024)

さらに、STR01-08 試験の症例は、MSC 治療後に運動機能、高次脳機能、ADL の上昇を認めた。

図 4. 重症頭部外傷患者に対し MSC 治療の前後で各種臨床スコアの上昇を認めている。
A. NIHSS, B. total-FMA (Right), C. total-FMA (Left), D. CBA., E. Barthel Index.
(Yamaki et al., 2024)



以上のことから、BDNF は機能予後との関連を示すバイオマーカーとしての可能性があることが示唆され、さらなる研究の推進が必要であると思われた。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamaki Tomohiro, Oka Shinichi, Iyama Satoshi, Sasaki Masanori, et al	4. 巻 36
2. 論文標題 Intravenous infusion of auto-serum-expanded autologous mesenchymal stem cells into chronic severe brain injury patients	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Interdisciplinary Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 101927 ~ 101927
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.inat.2023.101927	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 該当する

〔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	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	佐々木 優子 (Kataoka-Sasaki Yuko) (80631142)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	
研究分担者	本望 修 (Honmou Osamu) (90285007)	札幌医科大学・医学部・教授 (20101)	
研究分担者	鵜飼 亮 (Ukai Ryou) (30896113)	札幌医科大学・医学部・助教 (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	横山 貴裕 (Yokoyama Takahiro) (60896116)	札幌医科大学・医学部・研究員 (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			