

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16601

研究課題名(和文)新規のレドックスインジェクタブルゲルを併用した急性期脳損傷に対する再生医療

研究課題名(英文)Regenerative medicine for acute brain injury with novel redox injectable gel

研究代表者

高橋 利英(Takahashi, Toshihide)

筑波大学・医学医療系・客員研究員

研究者番号：50881562

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：Embryonic Stem Cell(ES細胞)はE-Cadherinを介して移植細胞の成熟度を調節し、移植細胞の生着・増殖を促す可能性が指摘されている。逆にN-Cadherinは神経細胞の移動・遊走と成熟に重要な役割を果たし、これにより移植細胞の生着後に神経細胞の増殖を促すことができる可能性もある。まずは、間葉系細胞である歯髄幹細胞でE-Cadherin抗体およびN-Cadherin抗体を利用した細胞成熟コントロールの可能性を検証した。E-Cadherin群は低酸素状態では細胞への障害が少ない可能性が示唆された。N-Cadherin群は細胞の成熟促進効果の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の神経分化誘導方法では幹細胞の分化、増殖が進み、長期に未成熟状態を維持することが困難であるが、E-cadherinを介した幹細胞は未成熟を維持し増殖能も有することが報告されている。逆にN-Cadherinは神経細胞の移動・遊走と成熟に重要な役割を果たすことが報告されている。本研究において、ヒト歯髄幹細胞の培養においてもE-CadherinとN-Cadherinのこのような役割が示された。この結果は、細胞培養を行う今後の研究においても応用できるものであり意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：It has been pointed out that Embryonic Stem Cells (ES cells) may regulate the maturation of transplanted cells through E-Cadherin, which may promote the engraftment and proliferation of transplanted cells. Conversely, N-Cadherin may play an important role in neuronal migration and maturation, which may promote neuronal proliferation after transplant cell engraftment. First, we tested the possibility of using E-Cadherin and N-Cadherin antibodies to control cell maturation in dental pulp stem cells, which are mesenchymal cells. The E-Cadherin group suggested that hypoxia may cause less damage to cells; the N-Cadherin group suggested the possibility of a cell maturation-promoting effect; and the N-Cadherin group suggested the possibility of a cell maturation-promoting effect.

研究分野：頭部外傷

キーワード：急性期脳損傷 レドックスインジェクタブルゲル 再生医療

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

外傷性脳損傷後、神経細胞は自己修復能力を有するがその効果は不十分であり、損傷された神経細胞に対しては移植細胞による再生医療の治療が期待されている(1)。しかし、外傷性脳損傷急性期は酸化ストレス、低酸素、炎症など不利な環境であり、成熟神経細胞を移植しても生着率も増殖能も低い(2)。酸素需要が低い未成熟神経細胞は低酸素環境で有利な可能性があるが、従来の神経分化誘導方法では分化、増殖が進んで長期に未成熟状態を維持することは難しい。Embryonic Stem Cell (ES細胞)はE-Cadherinを介して細胞の未成熟維持に寄与すると考えられており、これにより移植細胞の成熟度を調節して生着・増殖を促す可能性もある(3,4)。逆にN-Cadherinは神経細胞の移動・遊走と成熟に重要な役割を果たし、これにより移植細胞の生着後に神経細胞の増殖を促す可能性もある(5,6)。

ヒト歯髄幹細胞(Dental Pulp Stem Cell: DPSC)は神経堤に由来し、多能性で高い自己複製能と増殖能を有する。他の細胞と比較し、安定的かつ多量に神経系細胞を得られるため移植細胞として有用である(7)。

2. 研究の目的

間葉系細胞である歯髄幹細胞で、E-Cadherin抗体およびN-Cadherin抗体を利用した細胞成熟コントロールの可能性を検証する。

3. 研究の方法

1 traumatic brain injury (TBI) モデルマウスの作成

免疫不全マウスであるC.B-17/1cr scid/scid Jcl mice (オス、7-8週齢、体重22-26g)に全身麻酔をかけ、液体窒素で冷却した銅棒(径3mm)を左前頭部に30秒間骨上から押し当てた。

2 TBI マウスへの細胞移植方法

受傷2日後に挫傷周囲前縁に細胞を直接移植した。移植細胞はDPSCから誘導して得られた神経系細胞(DPiNC)を用いたが、以下の3群に分類した。

Matrigel コートにて培養した DPiNC
E-Cadherin コートにて培養した E-Ca NC
N-Cadherin コートにて培養した N-Ca NC

それぞれの群を移植したマウスについて、以下の行動評価と移植細胞生存の評価を行なった。

3 行動評価

TBI マウスに細胞移植した後、移植7日後、14日後、21日後、28日後に行動評価を行なった。

行動評価は運動機能としてwire hang testとcylinder test、行動・運動感覚反射としてNeurological Severity Score-R (NSS-R)、精神症状としてMarble-burying testを行なった。

4 移植細胞生存の評価

TBI マウスに細胞移植28日後にsacrificeし、脳を摘出した。脳を冷凍凍結した後に免疫染色を行い、STEM121陽性の細胞数をカウントした(挫傷底部をランダムに3箇所選び、その平均数を計算した)。

4. 研究成果

wire hang test

E-Cad NCはday7~28においてShamよりも症状が有意に改善した。

N-Cad NCはday7~21においてShamよりも症状が有意に改善した。

cylinder test

E-Cad NC は day7～28 において Sham、DPiNC よりも症状が有意に改善した。

NSS-R

E-Cad NC、N-Cad NC、DPiNC は day14～28 において Sham よりも症状が有意に改善した。

Marble-buying test

各群の症状変化に有意な変化は認められなかった。

移植細胞生存

E-Cad NC、N-Cad NC で移植細胞の生存数が多かったが有意さは認められなかった。

結果のまとめ

- ・ E-Cad NC を移植することで Wire hang test、Cylinder test の結果から、運動機能の有意な改善が示された。
- ・ E-Cad NC、N-Cad NC を移植することで、NSS-R の結果から、行動・運動感覚反射の有意な改善が示された。
- ・ 移植後 28 日目では、N-Cad NC、E-Cad NC で移植細胞の生存数が多いことが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------