

脊髄損傷治療へ向けた足場材料の開発

兼清健志¹、中野法彦¹、塚越千尋²、宮本陳敏²、安部征哉¹、井出千束¹

¹中央研究施設、²作業療法学科

研究概要

中央研究施設が2007年に再生医療研究所として開設されたときから、我々のグループでは脊髄損傷の治療に繋がる再生医療の基礎研究を行ってきた。中枢神経が再生するためには、再生する細胞や再生を促す液性因子の他に再生組織のための足場が必要だとされている(図1)。これまで、長年、細胞移植(骨髄間質細胞や骨髄由来単核細胞、脈絡叢上皮細胞)や液性因子の投与が脊髄損傷治療に有効であることを報告してきたが、本研究では、3つ目の要素「再生するための足場」に着目し、近畿大学の森本康一教授が開発した細胞低接着性コラーゲン(Low Adhesive Scaffold Collagen, LASCoI)の神経再生足場材料としての有用性を検討している。

これまでの成果

LASCoIはtype I collagenをactinidain消化し、精製したもので、線維芽細胞をはじめとする多くの細胞に対して低接着性を示すことが報告されている(Kuniet *et al.* J Biol Chem 2010)。そこで、まず、神経細胞に対してのポテンシャルを明らかにするために、*in vitro*の軸索伸長assayで検討した。LASCoIでコーティングしたディッシュ上でラット新生仔海馬由来神経細胞を初代培養したところ、神経細胞初代培養で一般的なPLL (poly-L-lysine)コーティングディッシュでの培養と比べて著しく神経突起が伸長することを見出した(図2)。次いで、脊髄損傷モデルラットを用いて*in vivo*での効果を検証した。ゲル化させたLASCoIを損傷部に投与して歩行機能の回復を調べたところ、PBSのみを投与したコントロール群に比べて有意に歩行機能の回復が認められた(図3)。これらの結果から、LASCoIは神経再生の足場材料として有望であることが明らかとなった。これにより、「神経細胞培養材及び神経損傷治療剤」としてPCT国際特許出願を行い、公開を果たした(特開 WO2019/151450)。2022年には、特許の国内移行を果たした(図4)。

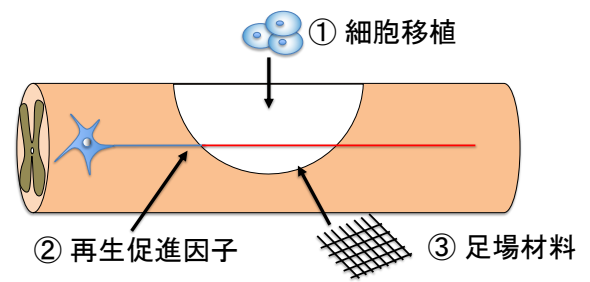


図1 神経再生に必要な三つの要素

- ①脱落した細胞を補うための細胞(幹細胞など)
- ②自己再生能力を高める因子(HGFなど)
- ③細胞の足場(細胞外マトリックスなど)

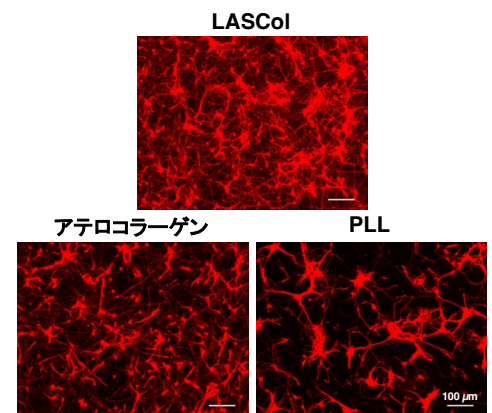


図2 神経細胞をLASCoI上で培養すると著しく突起を伸ばしたLASCoIコート、アテロコラーゲンコート、poly-L-lysine (PLL) コートしたプレートでラット海馬由来神経細胞を同数播種後72時間培養し、神経細胞マーカーであるβ-tubulinで免疫細胞化学染色した。

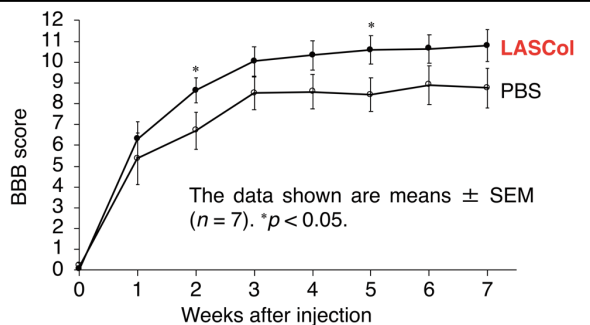


図3 脊髄損傷ラットの歩行運動の評価

控減損傷ラットの損傷部にLASCoIゲル(コントロール群はPBS)を注入し、7週間にわたってBBB (Basso-Beattie-Bresnahan) スコアによる評価を行った。



図4 特許証(特許第7012970号)

今後の展望

現在、臨床応用へ向けて、LASCoIによる神経再生メカニズムの解明や至適条件の検討を行っている。LASCoIは、単独の足場材料としてのみならず、細胞移植や有効因子と組み合わせることで、さらに有効性の高い治療法の開発が期待される。

共同研究者(機関)

森本康一、永井宏平、國井沙織 (近畿大学)
尾前薫 (神戸医療産業都市推進機構)