

骨髄間葉系幹細胞由来細胞外小胞による脊髄損傷治療の最適化

中崎 公仁 [札幌医科大学/特任助教]
本望 修 [札幌医科大学/教授]
佐々木 祐典 [札幌医科大学/准教授]
吉川 義洋 [ニプロ株式会社/再生医療研究開発センター長]
Jeffery D. Kocsis [イェール大学/教授]

背景・目的

脊髄損傷の治療法は依然として限られており、再生医療の新たな選択肢として骨髄間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells: MSC) 由来細胞外小胞 (MSC-EV) に大きな期待が寄せられている。これまでの先行研究で、MSCの静注により、体内に投与されたMSCは、EV (MSC-EV) を分泌し、そのMSC-EVが損傷部位に取り込まれ、運動機能回復や血液脊髄関門修復に寄与することが示されている。本研究では、MSC-EV静注療法とリハビリテーション(リハビリ)併用の相乗効果を検証し、運動機能回復の最適化と治療メカニズムの解明を通じ、MSCを用いた再生医療の臨床応用を推進することを目的とする。

内容・方法

以下の内容を検証した。

- ラット重症脊髄挫減損傷モデルを用い、PBS投与群、MSC-EV単回投与群、PBS+リハビリ群、MSC-EV+リハビリ併用群の4群を設定し、運動機能回復をBasso Beattie Bresnahan(BBB)スコアで経時評価した。
- MRI-DTI解析により神経線維数、神経線維回路の走行変化を解析した。
- 治療介入後10日目に、病変部からFACSでマイクログリア/マクローファージを分離し、RNAシーケンス解析を実施した。これにより、MSC-EVとリハビリの相乗効果による遺伝子発現変化やシグナル伝達経路の活性化の解明を試みた。

得られたデータを基に、MSC-EVの最適投与方法およびリハビリ併用療法の治療メカニズムを明らかにし、脊髄損傷に対する再生医療の臨床応用に向けた新たな治療戦略の確立を目指した。

結果・成果

以下の結果・成果を得ることができた。

- 運動機能の回復を実験の結果、PBS投与群では、脊髄損傷後42日目のBBBスコアは十分な回復が得られず、運動機能の回復は極めて限定的であった。トレッドミルによるリハビリを追加することで、運動機能の回復が軽度改善する傾向があったが、その改善度は軽度であった。一方で、MSC-EV単回投与群では、投与後早期からBBBスコアに改善傾向が見られ、良好な運動機能回復が認められた。

特に、PBS単独群、PBS+リハビリ群に比べ、MSC-EV群では良好な運動機能回復を示していた。さらに、MSC-EV+リハビリ併用群では、さらにBBBスコアが著しく向上し、最終的な評価時点では運動機能の大幅な改善が確認された。以上の結果より、MSC-EV静注療法にリハビリを併用することによって、MSC-EV静注療法の治療効果を増強する可能性が示唆された。

- MRI-DTI解析では、MSC-EV+リハビリ併用群において、神経線維数の増加および神経線維回路の走行パターンも変化している可能性が示唆された。これに対し、PBS投与群では、神経線維の断絶や不整合が散見され、再生の兆候はほとんど認められなかった。
- 損傷後10日目にFACSで分離したマイクログリア/マクローファージのRNAシーケンス解析により、MSC-EVを経静脈的に投与することで、病変部に集積しているマイクログリア/マクローファージが局所的な炎症環境の改善に関わるPathwayを活性化していることが示唆された。これらのPathwayはMSC-EVに含まれるMicroRNAで制御されている可能性が示唆された(図1参照)。

これらの成果は、MSC-EV単独療法よりもリハビリテーションとの併用により、相乗効果が発揮されることを示しており、神経線維の再生、炎症制御、及び神経細胞の機能回復という複合的な治療効果が得られる可能性がある。以上の結果により、本研究は脊髄損傷に対するMSC-EVを用いた再生医療の実現可能性を大きく前進させ、将来的な臨床試験および治験プロトコルの策定に向けた重要な知見が得られた。

今後の展望

本研究の成果に基づき、MSC-EV静注療法とリハビリテーションの併用による治療効果の増強が確認されたため、今後は最適な投与条件やリハビリタイミングの精密な設定を進め、動物実験から臨床試験への橋渡しを図る予定である。さらに、リハビリテーションによってどのようなMolecularの変化が起こり、その変化がMSC-EVで誘導される変化に対してどのような相乗効果を与えるのかを明らかにし、リハビリテーションとMSC-EV併用療法における分子学的機序を解明していく。特にMSC-EVに含まれるMicroRNAの作用機序との関連を詳細に解明することで、個々の患者に合わせた治療プロトコルの策定や、他の神経障害に対する応用可能性の検討を推進する予定である。以上を踏まえ、再生医療の臨床実現に向けた確固たる基盤を構築し、札幌発の事業化に展開することを目指す。

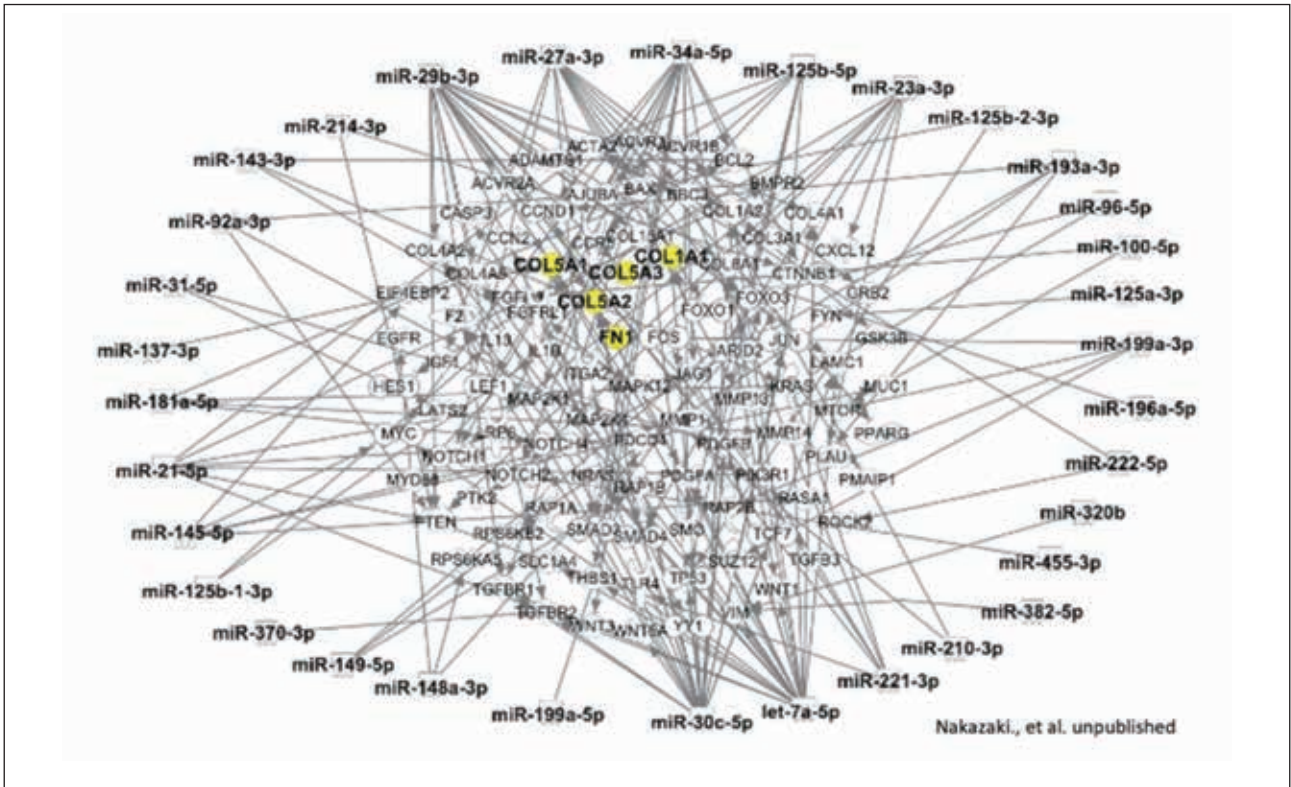


図1:MSC-EVに含まれるMicroRNAと活性化したM2マクロファージの炎症に関わる分子

MSC-EVには幾多ものMicroRNAが同定された。図の周囲にあるMicroRNAがヒト血清に含まれるEVと比較して有意に増加していたMicroRNA。これらのMicroRNAは、協奏的にいくつかの炎症、組織再生に関わる分子を制御していることが判明した。(Nakazaki, et al., 未発表)