

学位研究紹介

脂肪組織由来幹細胞から抽出した Cell Extract が末梢神経細胞に及ぼす効果の検討

Effects of Cell Extract from Adipose-derived Stem Cells on Peripheral Nerve Cells

新潟大学大学院医歯学総合研究科歯科麻酔学分野  
(主任：瀬尾憲司教授)

今井 有蔵

Division of Dental Anesthesiology, Faculty of Dentistry & Graduate School of Medicine and Dental Sciences, Niigata University (Director: Prof. Kenji Seo)

Yuzo Imai

【背景および目的】

下顎埋伏智歯抜歯術やインプラント埋入術などは、下歯槽神経や舌神経などの末梢神経を損傷することは少なくない。これを原因とする慢性疼痛に対しては、薬物療法や星状神経節ブロック、自家神経移植といった外科的治療が行われている。しかし薬物療法は副作用や薬物依存を助長する可能性<sup>1)</sup>、星状神経節ブロックは致死の合併症が生じる可能性<sup>2)</sup>が報告されている。さらに自家神経移植では、正常な神経組織の一部を犠牲にしない<sup>3)</sup>等の制限がある。

また過去には、ラットに対し脂肪組織由来幹細胞 (Adipose-derived stem cells: ADSCs) を充填した人工神経を移植することにより、末梢神経の再生を促進したとの報告<sup>4)</sup>がある。ADSCsは脂肪組織から獲得することができ、脂肪細胞や神経細胞、心筋細胞などに分化できる多分化能を有していることから、ADSCsが末梢神経を再生させる可能性がある。しかし幹細胞を用いた治療を臨床に応用するためには、細胞の移植による拒絶反応の可能性や、幹細胞の保管や輸送の管理といった課題がある<sup>5)</sup>。

一方、細胞構造を破壊することによって作製される細胞抽出物 (Cell Extract: CE) は腫瘍原性や免疫原性のリスクが低く、1年以上の長期保存も可能である<sup>6)</sup>。さらに放射線照射後の唾液腺機能の回復<sup>7)</sup>や、心筋梗塞後の心機能を回復させる<sup>8)</sup>といった様々な臓器再生におけるCEの有用性が報告されている。しかし、CEを末梢神経再生へ応用した研究はない。そこで本研究では、ADSCs由来CE (CE-ADSCs) に含まれる各種因子を解析し、CE-ADSCsの末梢神経細胞への効果を検討した。

【方 法】

9週齢のC57BL/6Jマウス鼠径部の脂肪組織よりADSCsを樹立した。ADSCsを生理食塩水に懸濁し、懸濁液に対して凍結・解凍操作を3回繰り返すことにより細胞構造を破壊した。その後、遠心分離操作により上清を回収し、CE-ADSCsとして実験に使用した (図1)。

続いて、CE-ADSCsに含まれる血管新生関連因子や

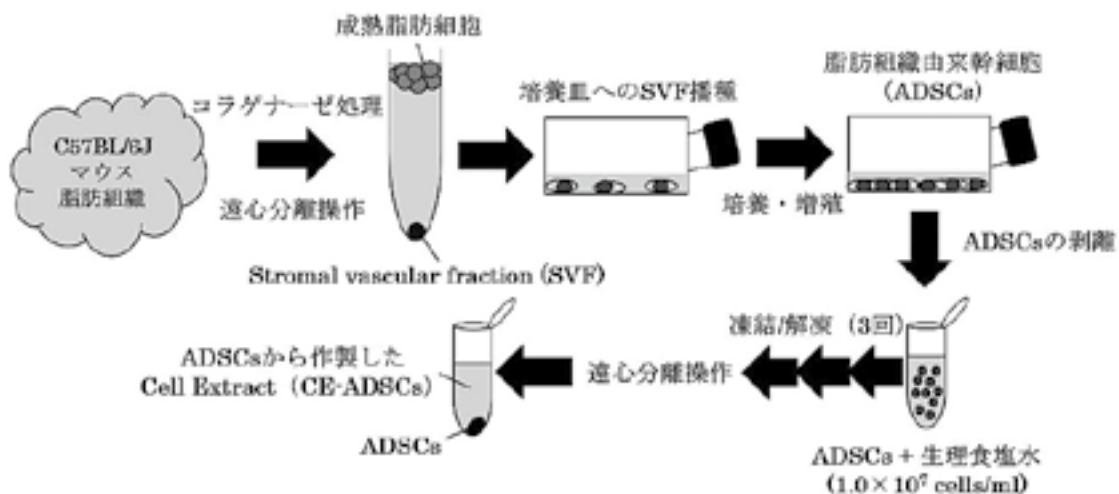


図1 脂肪組織由来幹細胞 (Adipose-derived stem cells: ADSCs) の樹立および細胞抽出物 (Cell Extract: CE) の作製。

サイトカインを、それぞれ Mouse Angiogenesis Array Kit または Mouse Cytokine Array Kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) にて解析した。また CE-ADSCs を添加した培地を用いて培養することで、CE-ADSCs のシュワン細胞、後根神経節 (Dorsal root ganglion : DRG) ニューロンに対する効果を解析した。

### 【結 果】

・CE-ADSCs 中には HGF や VEGF などの血管新生関連因子や SDF-1 などのサイトカインが含有していた。

・基本培地 (コントロール培地 : CM) で培養した群と比較して、CE-ADSCs を培地に添加した群 (CM + CE-ADSCs) では、シュワン細胞や DRG ニューロンに対して促進的に作用した。

### 【考 察】

末梢神経が損傷すると、マクロファージやシュワン細胞の貪食作用により損傷神経が除去されたのち、シュワン細胞が神経内膜や基底膜に沿って配列し再生の足場として機能する。さらにその配列に沿ってニューロンは軸索を伸長し、標的細胞とのネットワークを再構築させる<sup>9)</sup>。本研究より、CE-ADSCs の培地添加が、これら細胞に対し促進的に作用したことから、CE-ADSCs が損傷神経の再生を担うシュワン細胞やニューロンを活性化させることによって末梢神経再生の促進に関与する可能性を示唆することができた。

CE-ADSCs 中の成分を解析すると、様々な血管新生関連因子やサイトカインが含有していたが、本研究ではすべての因子を調べたものではない。したがって、CE-ADSCs の中に含まれるどの因子が有効であったかを示すことはできず、今後のさらなる研究が必要である。

### 【結 論】

CE-ADSCs 中の何らかの因子が、末梢神経細胞に有効に作用する可能性があり、新たな末梢神経再生の治療法となり得ることが明らかになった。

### 【文 献】

- 1) 山口重樹, 藤井宏一 : 〈特集〉痛み治療で用いる薬物の副作用とその対策・薬物依存. ペインクリニック, 41 : 1430-1440, 2020.
- 2) Chatrurvedi A, Dash H : Locked-in syndrome during stellate ganglion block. Indian J Anaesth, 54 : 324-326, 2010.
- 3) 素輪善弘, 古田鋼郎, 沼尻敏明, 松田修, 西野健一 : 末梢神経損傷に対する脂肪組織由来幹細胞移植治療 in vivo における検討. 末梢神経, 26 : 80-87, 2015.
- 4) di Summa PG, Kingham PJ, Raffoul W, Wiberg M, Terenghi G, Kalbermatten DF : Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration. J Plast Reconstr Anesthet Surg, 63 : 1544-1552, 2010.
- 5) Su X, Liu Y, Bakkar M, Elkashty O, El-Hankim M, Seuntjens J, Tran SD : Labial Stem Cell Extract Mitigates Injury to Irradiated Salivary Glands. J Dent Res, 99 : 293-301, 2020.
- 6) Su X, Fang D, Liu Y, Ruan G, Seuntjens J, Kinsella JM, Tran SD : Lyophilized bone marrow cell extract functionally restores irradiation-injured salivary glands. Oral Dis, 24 : 202-206, 2018.
- 7) Fang D, Su X, Liu Y, Lee JC, Seuntjens J, Tran SD : Cell extracts from spleen and adipose tissues restore function to irradiation-injured salivary glands. J Tissue Eng Regen Med, 12 : e1289-e1296, 2018.
- 8) Angeli FS, Zhang Y, Sievers R, Jun K, Yim S, Boyle A, Yeghiazarians Y : Injection of human bone marrow and mononuclear cell extract into infarcted mouse hearts results in functional improvement. Open Cardiovasc Med J, 6 : 38-43, 2012.
- 9) 西脇香織, 近藤国嗣, 里字明元, 千野直一 : 末梢神経損傷後の神経再生とリハビリテーション (総説). リハビリテーション医学, 39 : 257-266, 2002.