

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－イスラエル研究交流）

1. 研究課題名：「ラミニン由来活性ペプチドを用いたヒト胎児幹細胞由来ドーパミン作動性神経細胞包埋型マトリックスの開発-パーキンソン病細胞治療の実現にむけて」
2. 研究期間：平成22年10月～平成25年3月
3. 支援額： 総額 1,500万円
4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	野水 基義	東京薬科大学	教授
研究者	吉川 大和	東京薬科大学	准教授
研究者	保住 建太郎	東京薬科大学	講師
研究者	片桐 文彦	東京薬科大学	助教
研究者	山田 雄二	東京薬科大学	大学院生
参加研究者 のべ 5 名			

相手側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Benjamin Reubinoff	ヘブライ大学ハダッサ病院 幹細胞研究所	Professor
研究者	Sharona Even-Ram	ヘブライ大学ハダッサ病院 幹細胞研究所	Senior Researcher
参加研究者 のべ 2 名			

5. 研究・交流の目的

本研究は「ヒト ESCs 由来神経細胞含有マトリックスを用いた神経細胞再生療法の確立」という研究目標を、1, ヒト ESCs の神経細胞への分化を促進するマトリックスの開発、と 2, ヒト ESCs 由来神経細胞を細胞にダメージを与えることなく移植できるマトリックスの開発、という 2つの側面から統合的に検証するために、日本チームとイスラエルチームのそれぞれが長年にわたり行ってきた「人工細胞外マトリックス研究」と「神経性幹細胞研究」に立脚した研究である。本研究の最終目的は、腫瘍化リスクをなくしたドーパミン作動性神経細胞含有プラットフォームをアルツハイマー病モデルラットの患部に適用し、治癒率と生存率の向上を目指すものである。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

1, ヒト ESCs の神経細胞への分化を促進するマトリックスの開発

これまで日本チームは細胞外マトリックスの中でも多彩な生物活性を有しているラミニンというタンパク質の機能を約3000種類のペプチドを用いて同定・解析してきた。また、得られた活性ペプチドを高分子多糖に固定化することで、ラミニン由来活性ペプチド-高分子多糖マトリックスを作成し、これを人工細胞外マトリックスとして用いることを検討してきた。本研究では最初に、約100種類に及ぶラミニン由来活性ペプチド-高分子多糖マトリックスを共同研究先のイスラエルチームが容易かつ簡便に評価することを目的に、容易に調製可能なペプチド-アガロースマトリックスを開発した。このマトリックスを用いてイスラエルチームが hESC のドーパミン作動性神経細胞への分化を検証したところ、2

種類のペプチド-アガロースマトリックスが神経細胞への分化を有意に促進するが増殖は阻害することがわかった。未分化状態のままで増殖した hESC の生体内への移植は、腫瘍形成を生じる危険性を伴うため、本ペプチドは hESC のドーパミン作動性神経細胞への分化を誘導する理想的なマトリックスとなることが期待される。

また、細胞外マトリックスとして汎用されているマトリゲルの主成分である、ラミニン-111の機能を模倣したラミニン由来活性ペプチド-高分子多糖マトリックスの開発を行った。ラミニン-111由来のペプチド(60種類)を活性別に6つにカテゴリー分けし、各グループから1つずつ選び出したペプチドを固定化した、混合ペプチド-キトサンマトリックスは顕著に強い細胞接着活性および細胞伸展活性を示した。このマトリックスの生物活性はラミニン-111にちかく、ラミニン-111由来の活性ペプチドを混合することでラミニン-111の機能を模倣できる可能性が示された。

2, ヒト ESCs 由来神経細胞を細胞にダメージを与えることなく移植できるマトリックスの開発

ラミニン由来ペプチド-高分子多糖マトリックスをドーパミン作動性神経細胞包埋型マトリックスとして用い、動物(将来的なヒトへの応用)への移植を考えた時、生体適合性、生体内分解性、徐放性、安全性の高い高分子多糖であるヒアルロン酸は理想的な基材となる可能性が高い。そこで、本研究交流ではラミニン由来ペプチド-ヒアルロン酸マトリックスを開発した。ラミニン由来ペプチド-ヒアルロン酸マトリックスは、細胞接着活性、細胞進展活性、神経突起伸長活性をしめすだけでなく、ゲル状に成形したときは細胞のゲル内培養を可能とした。現在、本ラミニン由来ペプチド-ヒアルロン酸マトリックスをドーパミン作動性神経細胞のプラットフォームとして用いた移植試験が進行中である。

6-2 人的交流の成果

日本チーム、イスラエルチームがともに課題開始一年以内にお互いの研究室を訪問しあったことで、今後の指針について効果的なディスカッションと研究・人的交流ができた。

研究技術の交流に関しては、日本チームの保住講師がイスラエルチームとの研究交流および技術交流を目的に、本研究助成金を用いてヘブライ大学ハダッサ病院幹細胞研究センターに二週間の研究訪問をおこなった。日本チームの持つラミニン由来ペプチド-高分子多糖マトリックス作製法と、イスラエルチームの持つES細胞培養法と神経細胞への分化誘導法を、互いに教えあうことで両チームが新たな研究ツールを手に入れることができ、両チームの持つ技術の交流を研究交流事業によってはたすことができた。

また、日本、イスラエル両チームに加えて、米国 NIH の主任研究員らを招待し、「Japan-Israel-USA joint meeting -Application of Laminin in the Tissue Engineering-」を米国ワシントンDCにて日本チームが主催した。本ミーティングには、日本チーム、イスラエルチーム、また米国 NIH チームが参加し、それぞれが発表を行った。三カ国、5研究室からの発表およびディスカッションで本研究課題の応用性、発展性に関連する様々な意見交換を行うことができた。また、本ミーティングでは当研究室博士課程の大学院生も英語にて発表を行い、自分のすすめてきた研究に対して積極的に意見交換を行うことができ、若手の育成という意味でも実りのあるミーティングであった。

以上、本共同研究事業によって行われた人的交流は、研究の進捗に大きく寄与するだけでなく、新たなツールを得ることで両チームの今後の研究展開、若手の育成に大きく貢献したと思われる。

7. 主な論文発表・特許等（5件以内）

相手側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等	備考
論文	Yamada Y, Hozumi K, Katagiri F, Kikkawa Y, Nomizu M, Laminin-111-derived peptide-hyaluronate hydrogels as a synthetic basement membrane. <i>Biomaterials</i> , 34, 6539-6547 (2013)	
論文	Hozumi K, Sasaki A, Yamada Y, Otagiri D, Kobayashi K, Fujimori C, Katagiri F, Kikkawa Y, Nomizu M. Reconstitution of laminin-111 biological activity using multiple peptide coupled to chitosan scaffolds. <i>Biomaterials</i> , 33, 4241-4250 (2012)	
論文	Yamada Y, Hozumi K, Aso A, Hotta A, Toma K, Katagiri F, Kikkawa Y, Nomizu M. Laminin active peptide/agarose matrices as multifunctional biomaterials for tissue engineering. <i>Biomaterials</i> , 33, 4118-4125 (2012)	