慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	脊髄損傷に対する脊髄領域iPS細胞由来神経幹細胞移植と化学遺伝学による機能的解明
Sub Title	Transplantation of spinal cord-specific neural precursor cells for spinal cord injury and elucidation of its efficacy using chemogenetics
Author	名越, 慈人(Nagoshi, Narihito)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2021
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究は、脊髄固有の性質を持つ神経幹細胞サブタイプをヒトiPS細胞から作出し、脊髄損傷モデルマウスに移植することで、その有効性を検証するものである。特に、脊髄型の特徴を持つ神経幹細胞の移植による宿主神経回路の再構築に着目して研究を進めた。 まず、臨床研究で用いる細胞誘導プロトコルをベースに、後方化因子であるレチノイン酸とWnt活性化剤を加えることで、ヒトiPS細胞から脊髄の領域情報を持つ神経幹細胞を作出することに成功した。免疫組織化学染色によって、誘導された細胞には、脊髄領域に特異的なマーカーであるHOXB4が強く発現することが確認された。さらに、RNA-seq解析によって、網羅的な遺伝子発現においても、この細胞は実際のヒト脊髄細胞に類似したプロファイリングを示していることが実証された。In vitroにおける分化実験においては、脊髄に特徴的な介在神経細胞マーカーの発現を確認し、アストロサイトへの分化傾向も認めた。 次に、この細胞を、頸髄後索を切断した頸髄損傷モデルマウスに移植した。この際に、切断した頸髄後索と移植細胞との神経回路際接続を精密に測定できるように、移植細胞を損傷後索の近傍に正確に留置する移植手技を新たに開発した。移植した細胞は、十分な細胞生着、神経系分化傾向を確認した。さらに、宿主の神経回路をトレーサー標識することで、宿主と移植細胞との相互関係を探索したところ、一部、宿主神経回路と移植細胞が神経接続している様子を捉えることができた。現在、宿主神経回路と移植細胞との相互関係を定量的に測定する方法を開発中である。 本研究は、ヒトiPS細胞からの安定的かつ臨床グレードの脊髄型神経幹細胞の作成を可能とし、この細胞が脊髄損傷動物モデルにおいて宿主神経回路再構築に寄与する可能性を示唆した。 In this study, we demonstrated the generation of spinal cord-type neural progenitors from human induced pluripotent stem cells (iPSCs), and the elucidation of efficacy of these neural progenitors on the treatment of spinal cord injury. In particular, this study focused on the reconstitution of host neural circuits by these neural progenitors. Firstly, we modified clinical-grade neural induction methods from iPSCs, and succeeded in generating neural progenitors with spinal cord characteristics by treatment with retinoic acid and a Wnt agonist. Immunohistochemical analyses demonstrated that these neural progenitors expressed HOXB4, a spinal cord-specific marker. RNA-seq analyses revealed that these progenitors had a similar gene expression profile to that of human dissected spinal cords. These cells can be differentiated into spinal cord-specific interneurons, in addition to astrocytes. Next, we transplanted these progenitors into cervical spinal cord injury mouse models. We developed a novel transplantation technique by which we can target the desired coordinates within injured spinal cords, and we succeeded in grafting our cells onto host injured neural circuits. Transplanted neural progenitors exhibited good engraftment and differentiation properties. We labelled host injured neural circuits by tracer labelling, and detected the interactions between grafted cells and host injured neural circuits. We are now working on the quantification of these interactions within spinal cords. This study demonstrated the scalable generation of clinical-grade, spinal cord-type neural progenitors from human iPSCs, and indicated the potential contribution of these cells to the reconstitution of damaged neural circuits within injured spinal cords.
Notes	申請種類 : 福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002020-0045

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2021 年 4 月 11 日

2020 年度　福澤基金研究補助研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	専任講師(有期・医学部)	補助額	1,500　千円
	氏名	名越 慈人	氏名（英語）	Narihito Nagoshi		

研究課題（日本語）

脊髄損傷に対する脊髄領域 iPS 細胞由来神経幹細胞移植と化学遺伝学による機能的解明

研究課題（英訳）

Transplantation of spinal cord-specific neural precursor cells for spinal cord injury and elucidation of its efficacy using chemogenetics

研究組織

氏　名 Name	所属・学科・職名 Affiliation, department, and position
名越慈人（Narihito Nagoshi）	整形外科
今泉研人（Kent Imaizumi）	生理学

１．研究成果実績の概要

本研究は、脊髄固有の性質を持つ神経幹細胞サブタイプをヒト iPS 細胞から作出し、脊髄損傷モデルマウスに移植することで、その有効性を検証するものである。特に、脊髄型の特徴を持つ神経幹細胞の移植による宿主神経回路の再構築に着目して研究を進めた。

まず、臨床研究で用いる細胞誘導プロトコルをベースに、後方化因子であるレチノイン酸と Wnt 活性化剤を加えることで、ヒト iPS 細胞から脊髄の領域情報を持つ神経幹細胞を作出することに成功した。免疫組織化学染色によって、誘導された細胞には、脊髄領域に特異的なマーカーである HOXB4 が強く発現することが確認された。さらに、RNA-seq 解析によって、網羅的な遺伝子発現においても、この細胞は実際のヒト脊髄細胞に類似したプロファイリングを示していることが実証された。In vitro における分化実験においては、脊髄に特徴的な介在神経細胞マーカーの発現を確認し、アストロサイトへの分化傾向も認めた。

次に、この細胞を、頸髄後索を切断した頸髄損傷モデルマウスに移植した。この際に、切断した頸髄後索と移植細胞との神経回路際接続を精密に測定できるように、移植細胞を損傷後索の近傍に正確に留置する移植手技を新たに開発した。移植した細胞は、十分な細胞生着、神経系分化傾向を確認した。さらに、宿主の神経回路をトレーサー標識することで、宿主と移植細胞との相互関係を探索したところ、一部、宿主神経回路と移植細胞が神経接続している様子を捉えることができた。現在、宿主神経回路と移植細胞との相互関係を定量的に測定する方法を開発中である。

本研究は、ヒト iPS 細胞からの安定的かつ臨床グレードの脊髄型神経幹細胞の作成を可能とし、この細胞が脊髄損傷動物モデルにおいて宿主神経回路再構築に寄与する可能性を示唆した。

２．研究成果実績の概要（英訳）

In this study, we demonstrated the generation of spinal cord-type neural progenitors from human induced pluripotent stem cells (iPSCs), and the elucidation of efficacy of these neural progenitors on the treatment of spinal cord injury. In particular, this study focused on the reconstitution of host neural circuits by these neural progenitors.

Firstly, we modified clinical-grade neural induction methods from iPSCs, and succeeded in generating neural progenitors with spinal cord characteristics by treatment with retinoic acid and a Wnt agonist. Immunohistochemical analyses demonstrated that these neural progenitors expressed HOXB4, a spinal cord-specific marker. RNA-seq analyses revealed that these progenitors had a similar gene expression profile to that of human dissected spinal cords. These cells can be differentiated into spinal cord-specific interneurons, in addition to astrocytes.

Next, we transplanted these progenitors into cervical spinal cord injury mouse models. We developed a novel transplantation technique by which we can target the desired coordinates within injured spinal cords, and we succeeded in grafting our cells onto host injured neural circuits. Transplanted neural progenitors exhibited good engraftment and differentiation properties. We labelled host injured neural circuits by tracer labelling, and detected the interactions between grafted cells and host injured neural circuits. We are now working on the quantification of these interactions within spinal cords.

This study demonstrated the scalable generation of clinical-grade, spinal cord-type neural progenitors from human iPSCs, and indicated the potential contribution of these cells to the reconstitution of damaged neural circuits within injured spinal cords.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）