

## 脳細胞の移動促進による再生医療技術の創出

研究代表者

澤本 和延 名古屋市立大学 教授

共同研究者

味岡 逸樹 東京医科歯科大学 准教授

金子奈穂子 名古屋市立大学 准教授 (R4年4月より同志社大学 教授)

澤田雅人 名古屋市立大学 講師



### 1. 研究の背景と達成目標

我々は、傷害を受けた脳内にバイオマテリアルを供給することで、傷害後に再生したニューロンの移動を促進し、脳機能を回復させることができることを報告した。本技術を実用化するためには、より優れた足場を開発し、ニューロンの移動促進効果を高める必要があった。本研究では、神経回路網が発達した成体脳においても投与可能な、低侵襲で移動促進効率がより高い足場材料の開発を目指した。

### 2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

- ・脳内投与が容易な超分子ペプチド材料 RADA16(A16G) (以下 mRADA、特願 2020-045109) に N-cadherin を組み込んだ新規人工足場材料 Ncad-mRADA を開発した。
- ・Ncad-mRADA によるニューロンの移動促進効果を確認した (対 mRADA の約 1.5 倍)。
- ・マウスの傷害脳に Ncad-mRADA を注入し、ニューロンの移動・再生・歩行機能の改善促進効果を確認した。
- ・研究成果を元に、特許を出願した (特願 2022-34331)。
- ・本研究の成果は、脳細胞の移動・再生を促進することによる新しい再生医療の基盤技術として役立つ可能性がある。
- ・本研究で用いた技術を用いて任意のペプチドと mRADA の融合タンパク質を作製することにより、様々な細胞の移動促進技術の開発が可能であると考えられる。

### 3. 研究成果

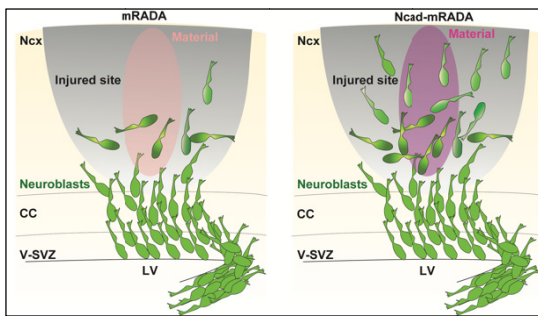
注入可能で生体内条件下で自己集合してファイバーを形成する人工足場の開発

脳内に投与できる超分子ペプチド材料 mRADA に N-cadherin-Fc あるいは N-cadherin を融合タンパク質として発現させた Ncad-Fc-mRADA および Ncad-mRADA による人工足場を作製した。従来の N-cadherin-Fc を足場材料に混合する方法と異なり、今回の技術で作製された材料においては、持続的に N-cadherin が足場に保持されるため、脳内でのニューロンの移動促進効果の向上が期待される。

人工足場によるニューロン移動・成熟・脳機能回復の評価

新たに確立した培養イメージングシステムを用いて、新規に開発した N-cadherin 含有人工足場によるニューロンの移動促進効果を確認した。傷害部位である大脳皮質へ、再現性良く人工足場を注入する技術を確立した。人工足場を投与された脳組織を解析し、過剰な炎症反応がないことを確認した。mRADA と比較して Ncad-mRADA を注入した傷害脳では、新生ニューロンの移動が有意に促進された(図1)。移動した細胞は、傷害組織の中でニューロンとして成熟した。さらに、Ncad-mRADA の投与によって、脳傷害によって低下した

マウスの歩行機能の回復が促進された。



(図1)新規足場材料 Ncad-mRADA によるニューロンの移動促進効果

mRADA 注入群と比較して、N-cadherin を組み込んだ Ncad-mRADA 注入群において、傷害部位である大脳皮質の表層や中間層に分布する新生ニューロンの密度が有意に増加した。この結果は、傷害後の脳内で Ncad-mRADA がニューロンの移動を促進する足場として有効であることを示している。

#### 4. 今後の展開

バイオマテリアル工学の研究者と共同で実施した本研究により、脳内への注入が容易であり、生体内でファイバーを形成する低侵襲な人工足場材料の開発に成功した。本足場材料を投与した脳傷害モデルマウスにおいて脳機能の回復が促進されたことから、脳疾患の再生医療デバイスとしての有効性が確認された。今回の技術を応用することで、任意のペプチドと mRADA の融合タンパク質を作製することも可能である。よって、対象となる細胞種に応じて組み込む分子を選択することで、ニューロン以外の細胞の足場にも応用できる可能性がある。必要な細胞を、必要な場所へと移動・再生させることで、失った機能を回復させる新しい再生医療の基盤技術として、現在治療が困難、あるいは根本的な治療方法のない脳疾患の治療に役立つことが期待できる。さらに、脳以外の器官の再生誘導や細胞移植医療など、様々な分野の医療デバイスの開発や創薬産業における技術革新につながることも期待できる。

#### 5. 発表実績

Kurematsu C, Sawada M, Ohmuraya M, Tanaka M, Kuboyama K, Ogino T, Matsumoto M, Oishi H, Inada H, Ishido Y, Sakakibara Y, Nguyen HB, Thai TQ, Kohsaka Sh, Ohno N, Yamada MK, Asai M, Sokabe M, Nabekura J, Asano K, Tanaka M, Sawamoto K. Synaptic pruning of murine adult-born neurons by microglia depends on phosphatidylserine. *J Exp Med*. 2022; 219 (4): e20202304 doi: 10.1084/jem.20202304

Nakajima C, Sawada M, Sawamoto K. Postnatal neuronal migration in health and disease. *Curr Opin Neurobiol*. 2021; 66: 1-9 doi: 10.1016/j.conb.2020.06.001

Akter M, Kaneko N, Herranz-Perez V, Nakamura S, Oishi H, Garcia-Verdugo JM, Sawamoto K. Dynamic Changes in the Neurogenic Potential in the Ventricular-Subventricular Zone of Common Marmoset during Postnatal Brain Development. *Cereb Cortex*. 2020; bhaa031 doi: 10.1093/cercor/bhaa031

Yaguchi A, Oshikawa M, Watanabe G, Hiramatsu H, Uchida N, Hara C, Kaneko N, Sawamoto K, Muraoka T\*, Ajioka I\*. Efficient protein incorporation and release by a jigsaw-shaped self-assembling peptide hydrogel for injured brain regeneration. *Nat Commun*. 2021; 12 (1): 6623 doi: 10.1038/s41467-021-26896-3

Ishida A, Watanabe G, Oshikawa M, Ajioka I, Muraoka T\*. Glycine Substitution Effects on the Supramolecular Morphology and Rigidity of Cell-Adhesive Amphiphilic Peptides. *Chemistry*. 2019; 25 (59): 13523-13530 doi: 10.1002/chem.201902083