

# コンドロイチン硫酸 E ユニット結合ペプチドの 脊髄損傷モデルでの神経再生

## Chondroitin sulfate E unit binding peptide promotes nerve regeneration in a spinal cord injury model using chick DRG neurons

東京工科大学大学院  
永井 美羽，木村 将大，佐藤 淳  
指導教員 佐藤 淳

東京工科大学 大学院 バイオ・情報メディア研究科バイオニクス専攻 生物創薬研究室

キーワード：コンドロイチン硫酸 E ユニット , 神経再生効果 , 脊髄損傷 , ヒトラクトフェリン

### 【背景・目的】

脊髄損傷は、交通事故などにより脊髄が損傷することで、運動、知覚機能および自律神経が傷害される病態を示す。毎年 25 万人から 50 万件の新たな罹患者が報告される重大な健康問題の 1 つであり、患者と社会に大きな負担をもたらしている。しかし、現在推奨すべき根本的な治療法は確立されておらず、早急な治療薬の開発が求められている。

脊髄損傷では、再生しようとする新たな神経の先端に存在する成長円錐の崩壊が起き、神経再生阻害が引き起こされる。損傷部位からは細胞膜上に存在する糖鎖であるコンドロイチン硫酸 E ユニット(CS-E)が高発現し、再生しようとする神経の成長円錐に結合することで、神経再生を阻害する(図 1)。<sup>[1]</sup>

既に、当研究室では、自然免疫で機能するヒトラクトフェリン(hLF)が CS-E に直接結合し、その神経再生阻害を回復することを見出している<sup>[2]</sup>。さらに 692 アミノ酸から成る hLF の三箇所 CS-E 結合予測部位<sup>[3]</sup>を基に、わずか 39 アミノ酸から成る CS-E 結合能を有するペプチド(ChBP)の創製に成功している。

本研究では、hLF と同様に ChBP が CS-E による神経再生阻害を回復させるのかを明らかにするため、CS-E を用いた 2 通りの *in vitro* 脊髄損傷モデルでその神経再生効果を調べた。

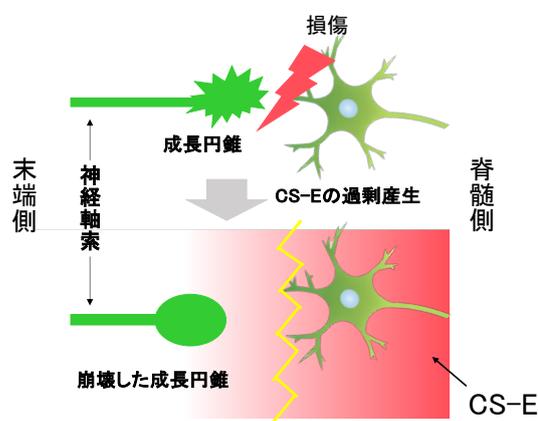


図 1 CS-E による神経再生阻害

### 【方法】

本研究では、孵卵 8 日目のニワトリ胚から脊髄後根神経節(Dorsal Root Ganglion : DRG)細胞を摘出し実験を行なった。

#### 成長円錐崩壊試験：

摘出した DRG 細胞を 24 時間培養し軸索が伸びていることを確認した後、CS-E を添加し 30 分で成長円錐を崩壊させた。その後 PBS で洗浄し、hLF、ChBP を添加して 90 分での成長円錐の再生効果を調べた。

**軸索伸長試験：**

CS-E を 24 ウェルプレートにコーティングし、摘出した DRG 細胞を 24 時間培養し、軸索が伸びていることを確認した後、hLF、ChBP を含む培地に交換し 24 時間での軸索の再生効果を調べた。

**【結果】****成長円錐崩壊試験：**

この実験では、成長円錐の崩壊率が大きいほど神経が傷害されていることを示す。

成長円錐崩壊率は、none では 17%にとどまったが、CS-E を作用せると 43%まで大きくなった。一方、hLF と ChBP を作用させると成長円錐崩壊率はそれぞれ 20%、21%まで小さくなった。このように、ChBP は hLF と同様に CS-E によって崩壊した成長円錐を再生した。

また、CS-E を作用させずに hLF および ChBP を作用させた場合は成長円錐の再生効果は見られなかった。

**軸索伸長試験：**

この実験では、軸索長が短いほど神経が傷害されていることを示す。

軸索長は none で  $68\mu\text{m}$  だったが、CS-E を存在下では  $47\mu\text{m}$  まで短くなった。一方、hLF と ChBP を作用させると軸索長はそれぞれ  $88\mu\text{m}$ 、 $81\mu\text{m}$  まで伸長した。このように、ChBP は hLF と同様に CS-E によって傷害された軸索を回復した。

また、CS-E を作用させずに hLF および ChBP を作用させた場合、軸索伸長効果は見られなかった。

**【考察】**

実験結果から、ChBP も hLF と同様に CS-E によって傷害された神経の再生能を有することが示された。また、CS-E を作用させない場合 hLF、ChBP の神経再生効果が示されないことから、hLF、ChBP は CS-E と結合し複合体を形成することで、神経再生阻害を回復すると考えられる。

**参考文献**

- [1] Busch SA *et al.*, *Curr Opin Neurobiol.* (2007)
- [2] Nakamura M *et al.*, *Biochem Biophys Res. Commun.* (2021)
- [3] David M. Mann *et al.*, *J Biol Chem.* (1994)