

ヒト脳梗塞巣から脳傷害時にのみ誘導される幹細胞 (injury-induced multipotent stem cells: iSCs)

と Mesenchymal stem cells (MSCs) の特性比較

別府幹也¹⁾, Saujanya Rajbhandari¹⁾, 中込隆之²⁾, 高木俊範¹⁾
土居亜紀子²⁾, 松山知弘²⁾, 吉村紳一¹⁾

- 1) 兵庫医科大学大学院医学系研究科 脳神経外科
- 2) 兵庫医科大学大学院医学系研究科 先端医学研究所 神経再生部門

【研究の背景】

脳梗塞患者の半数以上が麻痺などの後遺障害を伴い、医療費が年間 1 兆円を超えられている。そのため、脳梗塞患者に対する、根本的な治療法の確立が、医療経済的にも喫緊の課題である。これまで、様々な細胞を用いた神経再生療法が取り上げられたが、神経を真に再生するという確固たる証拠が少ない。近年、MSCs を細胞ソースとして、脳梗塞患者などを対象とした細胞移植治療の有効性が明らかになってきた。我々が発見したヒト脳梗塞巣から、自己複製能かつ多分化能を持ち、電気生理学的に機能的な神経に分化し得る傷害誘導性幹細胞 (injury-induced multipotent stem cells: iSCs) の起源はペリサイトとされており、ペリサイトが、MSCs と類似した特性を持つという報告は散見される。また、ペリサイトの一部は MSC の起源であるという報告もある。しかし、iSCs と MSCs の類似点、相違点に関してはよくわかっていない。

【目 的】

我々は、ヒト脳梗塞巣から、自己複製能かつ多分化能を持ち、電気生理学的に functional な神経に分化し得る傷害誘導性幹細胞 (injury-induced multipotent stem cells: iSCs) の単離に成功した。iSCs は間葉系幹細胞 (MSCs) の特性も有するが、iSCs と MSCs の類似点、相違点に関して、詳細な検討はない。本研究では、iSCs の将来的な臨床応用を目指す際に重要な知見である、MSCs との比較を、電気生理学的な活動を有する神経への分化能に着目して検討する。

【方 法】

ヒトの脳梗塞巣(6 患者)から採取した iSCs とヒトの骨髄由来 MSCs を対象とする。方法は以下の通りである。

- 1) 大脳 iSCs の単離を行う
- 2) iSCs と MSCs を比較検討する
 - ①免疫組織化学染色、②DNA マイクロアレイ、③電気生理システムを用いる。
 - ① 免疫組織化学染色: 神経細胞への分化能について神経関連マーカーを用いる (Tuj1, MAP2, Neurofilament Light)
 - ② DNA マイクロアレイ: MSC マーカー、ペリサイトマーカーについて比較する。
MSC マーカー: CD90, CD105, CD44, CD166, CD73, CD29
ペリサイトマーカー: PDGFR β , CD248, ANPEP, CSPG4, RGS5, ACTA2
 - ③ 電気生理システム: 機能的な神経に分化しているかを電気生理学的に比較検討する
 - ✓ 活動電位(自発電位)を有しているか。
 - ✓ 誘発電位を行い、活動電位が伝播しているか。

【結 果】

1) iSCs とヒト骨髄由来 MSCs の特性比較

MSCs、iSCs ともに MSC マーカーを発現した。増殖能及び、幹細胞能は iSCs の方が優れていた。

2) iSCs とヒト骨髄由来 MSCs の中胚葉系への分化能

脂肪、骨、軟骨への分化能に関しては、MSC の方が優れていた。

3) iSCs とヒト骨髄由来 MSCs の神経系への分化能

iSCs の方が優れていた。また iSCs は、電気生理学的に機能的な神経に分化した。

【考 察】

今回の研究では、脂肪、骨、軟骨といった中胚葉系への分化能に関しては、MSC の方が優れていたが、神経分化能に関しては、iSCs の方が優れていた。また iSCs は、電気生理学的に機能的な神経に分化していた。MSCs はあらゆる部位に存在し、部位により特性が異なるため、それぞれの特性を解明する必要があるが、iSCs の由来と考えているペリサイトは、neural crest 起源と言われていることから考えると、神経分化能が優れていた結果は矛盾しない。このことから、iSCs は、MSC よりも優れた細胞ソースとなり得る可能性がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

iPS や ES 細胞由来神経幹細胞、胎児由来神経幹細胞などの外来性幹細胞ではなく、病態時にのみ誘導される内在性の幹細胞 (iSCs) を研究対象にしている点は、倫理的な問題を考慮すると、臨床的なハードルは低く臨床的意義は高い。二つの細胞を比較し、細胞外電位記録装置を使用し、機能的な神経に分化しているかどうかを比較したことは、真に神経機能の改善をもたらす神経の誘導の可否につき検討したことになり、将来的には、iSCs を基盤とした脳梗塞後の神経再生療法の臨床応用を目指せることにつながる。また、直接ヒトを対象にした創薬研究につながっていくこともこの研究の重要な意義である。

【参考・引用文献】

- Nakagomi T, Z Molnar, A Nakano-Doi, A Taguchi, O Saino, S Kubo, M Clausen, H Yoshikawa, N Nakagomi and T Matsuyama. (2011). Ischemia-induced neural stem/progenitor cells in the pia mater following cortical infarction. *Stem Cells Dev* 20:2037-2051.
- Nakagomi T, S Kubo, A Nakano-Doi, R Sakuma, S Lu, A Narita, M Kawahara, A Taguchi and T Matsuyama. (2015). Brain vascular pericytes following ischemia have multi-potential stem cell activity to differentiate into neural and vascular lineage cells. *Stem Cells* 33:1962-1974.
- Sakuma R, A Takahashi, A Nakano-Doi, R Sawada, S Kamachi, M Beppu, T Takagi, S Yoshimura, T Matsuyama and T Nakagomi. (2018). Comparative characterization of ischemia-induced brain multipotent stem cells with mesenchymal stem cells: similarities and differences. *Stem Cells Dev* 27:1322-1338.
- Beppu M, T Nakagomi, T Takagi, A Nakano-Doi, R Sakuma, Y Kuramoto, K Tatebayashi, T Matsuyama and S Yoshimura. (2019). Isolation and characterization of cerebellum-derived stem cells in poststroke human brain. *Stem Cells Dev* 28:528-542.
- Vezzani B, E Pierantozzi and V Sorrentino. (2016). Not all pericytes are born equal: pericytes from human adult tissues present different differentiation properties. *Stem Cells Dev* 25:1549-1558.