

2016年7月20日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

脳形成異常である滑脳症^{かつのうしょう}の病態再現に世界で初めて成功
— 脳形成メカニズム、脳形成疾患の治療法解明につながる成果 —

慶應義塾大学医学部生理学教室（岡野栄之教授）、国立病院機構大阪医療センター臨床研究センター分子医療研究室（山崎麻美客員室長）、同・再生医療研究室（金村米博室長）を中心とする共同研究チームは、胎児期に脳の形成に障害をきたす脳形成疾患である滑脳症患者より iPS 細胞を樹立し、脳形成過程で異常を引き起こすメカニズムを明らかにしました。培養皿内における脳形成疾患の病態再現は、世界で初めての成果です。

滑脳症は、脳の層構造や大脳のしわがうまく形成されず、表面が平滑となる先天的な疾患です。遺伝子の突然変異により生じることが知られ、複数の原因遺伝子が報告されています。本研究グループは滑脳症患者の中でも TUBA1A 遺伝子(注1)に変異を持つ患者2名より iPS 細胞を樹立した後、神経前駆細胞(注2)に分化誘導し、特殊な方法を使用して神経前駆細胞が神経突起を伸ばしていく様子を可視化することに成功しました。その結果、TUBA1A 遺伝子変異を持つ神経前駆細胞において、神経突起の伸長が障害されていることが明らかとなりました。これは患者の MRI 画像での、形態学的な特徴とも一致しています。

本研究成果は、滑脳症をはじめとする難治性脳形成疾患の病態と治療法解明、さらにはヒトの脳の形成メカニズムの解明と、さらなる応用が期待されます。

本研究成果は2016年7月20日(英国時間)に脳科学専門誌「Molecular Brain」のオンライン版に掲載されました。

1. 研究の背景

大脳の神経細胞は、胎児期に神経前駆細胞から生み出された、放射状グリア細胞(注3)というガイドに沿って、外側へと向かって遊走し、大脳を拡大させ、「しわ」をつくるともに、層構造を形成すると考えられています。そして各層に存在する神経細胞は神経突起を伸長させ、さまざまな脳の部分をつなぐことで、複雑な脳のネットワークを形成します。特にヒトでは、進化の中でこれらの構造が複雑となり、精神活動や知能を含むヒトの「こころ」を生み出していったと考えられています。滑脳症は、10万人に1人という割合で発症する稀な疾患であり、層構造や大脳のしわがうまく形成されず、表面が平滑な脳となることから、この病名で呼ばれています。先天的な疾患であり、遺伝子の突然変異により生じることが知られ、複数の原因遺伝子が報告されています。しかし、医学的にもまだ十分に理解が進んでおらず、脳の「しわ」の形成など、ヒトの脳に特徴的な形態の異常にかかわることから、モデル動物を用いた解析にも限界がありました。

2006年に京都大学の山中伸弥教授らは体細胞(注4)を初期化し多能性幹細胞(iPS細胞)を作り出す革新的技術の開発に成功しました。これにより、iPS細胞から個体発生に類似した

過程を経ることで、神経細胞などのさまざまなヒトの細胞を作り出すことができるようになりました。本研究では滑脳症患者の体細胞から iPS 細胞を作成し、試験管内で脳の形態異常の再現を試みました。

2. 研究の概要と成果

研究チームは、全国の小児科医・小児脳神経外科医・神経放射線科医・産婦人科医らで構成されるネットワーク（FBM ネットワーク）と共同で、脳形成疾患患者の臍帯組織・胎盤・血液を収集しました。この中から滑脳症患者で TUBA1A 遺伝子に異常を有する患者のサンプルが得られ、同患者の臍帯組織および末梢血リンパ球を培養し、リプログラミング因子を導入して iPS 細胞を作成しました。作成された iPS 細胞での形態・表面マーカーの発現などの特徴は、健康な人から樹立した iPS 細胞とは一見区別が付き、同様の性質を有しているものの、TUBA1A 遺伝子の異常が確認されました。この iPS 細胞を神経系へ分化させ、ニューロスフェア(注 5)法という方法で神経前駆細胞を増殖させました。この細胞塊であるニューロスフェアは培養条件を変えることにより、神経前駆細胞から神経細胞などの細胞が出現するようになります。TUBA1A 遺伝子に異常があるこれらの神経細胞では、周囲に現れる突起の配列が非常に乱れたものになることがわかりました。しかしながら分化過程のニューロスフェアは雑多な細胞からなり、形態異常の原因がはっきりとわかりませんでした。

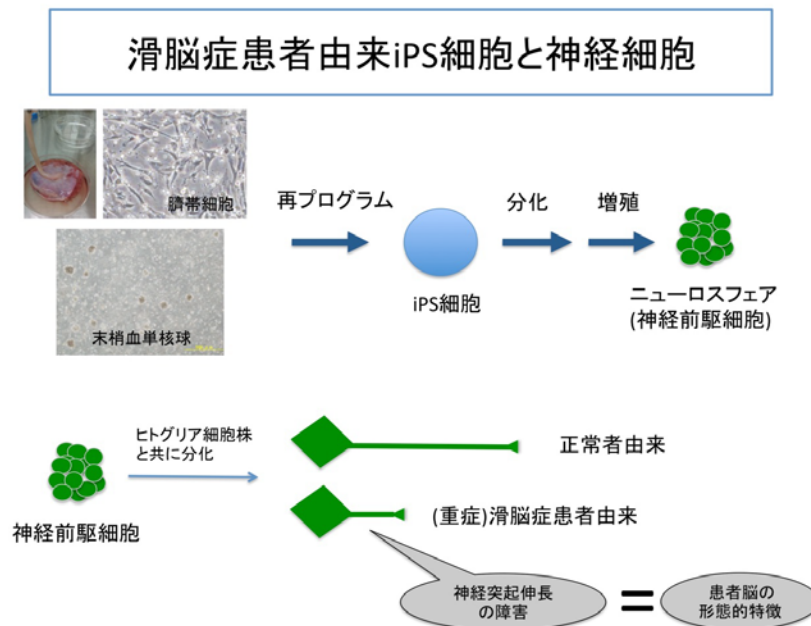
そこで、本研究チームは神経突起の伸長に焦点を当てるため、細胞の形態を描出するための蛍光タンパク質をコードする遺伝子を、ニューロスフェアに導入することにより光らせました。そして、この光るニューロスフェアを、神経細胞への分化を強力に促す作用のあるヒトグリア細胞株と混合することにより、急速にかつ一定方向に神経突起を伸長させるという、特殊な方法を開発しました。この方法を用いて、重篤な滑脳症患者に由来する神経細胞を観察すると、神経突起の伸長が重度に障害されていることが明らかになりました。蛍光タンパク質は生きたまま細胞を観察することが可能であり、この様子を動画で観察することもできました。軸索と呼ばれる長い神経突起は脳の様々な部分を接続する働きがありますが、この滑脳症患者の検査画像を詳細に検討すると、「脳梁」とよばれる左右の脳皮質を接続する神経突起により構成される構造が欠失していることがわかりました。一方で、同じ滑脳症であっても症状の軽い患者の検査画像ではこの「脳梁」が認められており、iPS 細胞由来の神経細胞から神経突起の伸長も明らかな障害を認めませんでした。これらのことから、iPS 細胞由来神経細胞は滑脳症患者の脳の「かたち」に関わる異常を培養皿の中で再現していることが示唆されました。また、この形態異常は TUBA1A 遺伝子異常により作られたタンパク質が神経細胞への分化の際の神経突起の伸長を阻害している可能性があることも実験的に確認することができました。

これまで、ヒトの滑脳症の形態異常を培養皿で再現することは難しいと考えられていましたが、我々は iPS 細胞というツールを用いて可視化することが可能であることを世界で初めて示すことができました。

3. 今後の展開

本研究により、脳形成障害という脳の「かたち」の異常を試験管内で再現し、研究することが可能となりました。これにより、滑脳症をはじめとする先天性脳形成疾患の病態解明・治療法開発が進むものと期待されます。今回の研究では滑脳症病態の一部の特徴に焦点を当て

ていましたが、さらに脳の「しわ」ができなくなる理由や大脳皮質神経細胞の運動などについても、研究を進めていく予定です。また、こうした研究はヒトの脳がどのように作られていくかを知る上で極めて重要な手がかりが得られ、将来的な治療法の開発につながるものと期待されます。



4. 論文

タイトル：“In vitro characterization of neurite extension using induced pluripotent stem cells derived from lissencephaly patients with TUBA1A missense mutations”

(邦訳)：TUBA1A 遺伝子にミスセンス変異を有する滑脳症患者由来の iPS 細胞を用いた神経突起伸長の特性解析

著者名：馬場庸平*、正札智子、加藤光広、夫律子、立石洋子、高梨潤一、宇都宮英綱、隅田美穂、兼松大介、末水洋志、樋口裕一郎、赤松和土、Denis Gallagher、Freda D. Miller、山崎麻美、金村米博、岡野栄之**

* first author, ** corresponding author

掲載誌：Molecular Brain オンライン版

5. 特記事項

本研究は科学技術振興機構(JST)/日本医療研究開発機構(AMED) 再生医療実現拠点ネットワーク事業「疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究」の助成を受けて実施されました。

【用語解説】

(注1) TUBA1A遺伝子：微小管という細胞小器官を構成する主要なタンパク質であるαチューブリンをコードする遺伝子の一つ。主に神経細胞や神経前駆細胞で発現することが知られている。

(注2) 神経前駆細胞：神経細胞の元となる細胞。分裂して増殖するとともに分化することにより神経細胞を生み出すことができる細胞。

(注3) 放射状グリア細胞：胎生中期でもつばらニューロンを産生する時期の神経幹細胞は、細胞体が神経管の脳室周囲にあり、脳表に向かって放射状の長い突起を有し、その形態的特徴から「放射状グリア細胞」と呼ばれる。放射状グリア細胞は、神経幹細胞として非対称性分裂により放射状グリア細胞と新しい神経細胞を産み出すとともに、新しく生まれた神経細胞の移動のための足場を形成するものと考えられている。

(注4) 体細胞：生殖細胞を除く、脳や筋肉、皮膚などの体を構成する細胞。多能性幹細胞と異なり、分化しているか、分化する方向性が限定されてしまった細胞。

(注5) ニューロスフェア：細胞を成長させる因子を複数添加した培地で、神経幹細胞や神経前駆細胞を選択的に増殖させた際に生じる、これらの細胞からなる細胞塊。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 生理学教室
教授 岡野 栄之 (おかの ひでゆき)
TEL:03-5363-3747 FAX 03-3357-5445
E-mail: hidokano@a2.keio.jp
<http://www.okano-lab.com/>

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学
信濃町キャンパス総務課:谷口・吉岡
〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35
TEL 03-5363-3611 FAX 03-5363-3612
E-mail::med-koho@adst.keio.ac.jp
<http://www.med.keio.ac.jp/>