

2022年7月1日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

ヒト iPS 細胞由来神経免疫細胞「ミクログリア」の高効率分化誘導法の開発 —ミクログリアに起因する神経疾患の創薬研究や治療法開発への応用に期待—

慶應義塾大学医学部生理学教室の孫 怡姫（ソン イキ）（大学院医学研究科博士課程学生）、岡野栄之教授らの研究グループは、中枢神経系内唯一の常在性免疫細胞であるミクログリア（注1）を、ヒト iPS 細胞（注2）から高効率に分化誘導する新たな方法を開発しました。

中枢神経系（脳と脊髄）には、恒常性の維持に重要な役割を果たす免疫細胞であるミクログリアが存在します。ミクログリアは、死んだ細胞を除去したり、ほかの神経系細胞の維持や分化を促したり、過剰な神経活動を抑制するなど、様々な中枢神経系固有の機能を持っています。

近年、アルツハイマー病（注3）や前頭側頭型認知症（注4）などの中枢神経系疾患の原因遺伝子、もしくはリスク遺伝子がミクログリアに高く発現していること、またミクログリアはこれらの疾患の病態進行に影響することが報告され、神経疾患の研究において世界的な注目を集めています。

本研究では、単一の転写因子（注5）の過剰発現により、ヒト iPS 細胞からミクログリアの高効率な分化誘導法を開発し、ヒトミクログリアを用いた中枢神経疾患の解析モデルを構築しました（図1）。この方法により作製したミクログリアは、遺伝子発現プロファイルや生理機能などを評価したところ、ヒト脳内のミクログリアに近い性質を持つことが確認されました。この成果はミクログリアに起因する数多くの神経疾患の創薬研究や治療法開発への応用が期待されます。

本研究成果は 2022 年 7 月 1 日（英国時間）に国際科学雑誌である *Inflammation and Regeneration* に掲載されました。

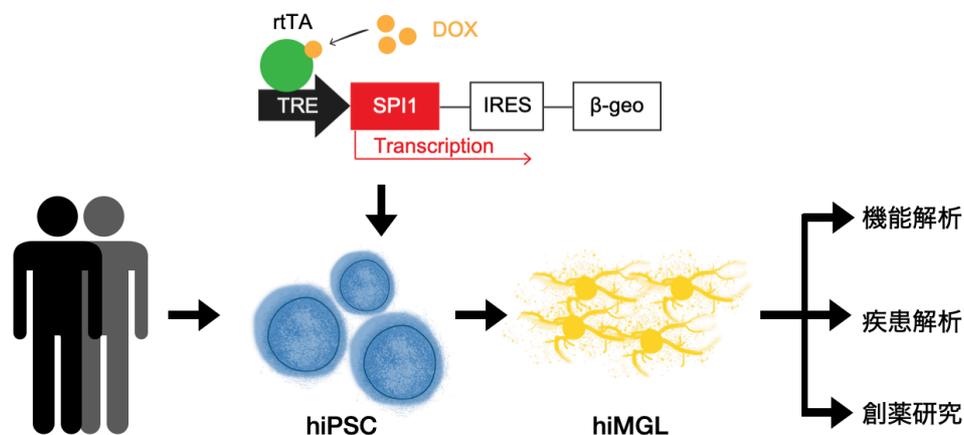


図1. ヒト iPS 細胞からミクログリアの高効率な分化誘導法を開発したことで、さまざまな中枢神経系疾患の治療法開発への応用が期待されます。

1. 研究の背景

日本を含む高齢化社会では、さまざまな中枢神経疾患が人々の日常生活動作（ADL）を低下させることにより、社会財政や医療資源にも多大な負担となっています。これらの中枢神経疾患の多くは、脳内の常在免疫細胞（ミクログリア）の異常な活性化により過剰な炎症反応を引き起こし、病態進行に負の影響をもたらすと考えられています。そのため、ミクログリアの活性化あるいは機能破綻メカニズムの解明は、中枢神経疾患治療において大変重要であると考えられます。

これまでのミクログリアに関する研究は、主にげっ歯類を用いて行われており、多くの有用な知見をもたらしてきました。しかし、ヒトと同様の症状が認められなかったり、ミクログリアの遺伝子発現パターンが異なるなど、げっ歯類とヒトの種差の問題が指摘されています。したがって、ミクログリアの研究には、より適切なヒト由来のモデル開発が求められてきました。

本研究では、ヒト iPS 細胞由来ミクログリアの効率的な分化誘導法の開発および疾患解析モデルの構築を目指しました。その成果は、ミクログリア障害を端緒とした神経疾患における脳内免疫機構の破綻に対する網羅的な理解、および治療法開発につながると思定されます。

2. 研究の成果と意義

i. ヒト iPS 細胞由来ミクログリアの分化誘導法開発

ミクログリアは、中胚葉（注 6）由来の卵黄囊（注 7）から発生する脳実質内唯一の常在免疫細胞です。従来のミクログリア誘導法は、長い時間を要し、かつ誘導効率が低いといった問題点がありました。そのため、孫らはミクログリアの発生学的起源に着目し、ミクログリアの発生に重要な転写因子である PU.1（注 8）を Tet-On システム（注 9）を用いて発現誘導可能な iPS 細胞を作製しました。これにより、非常に手間のかかる細胞分取プロセスを省略し、短期間（約 3 週間）で大量のミクログリア（human iPSC-derived microglia; hiMGLs）を作製することに成功しました（図 2）。

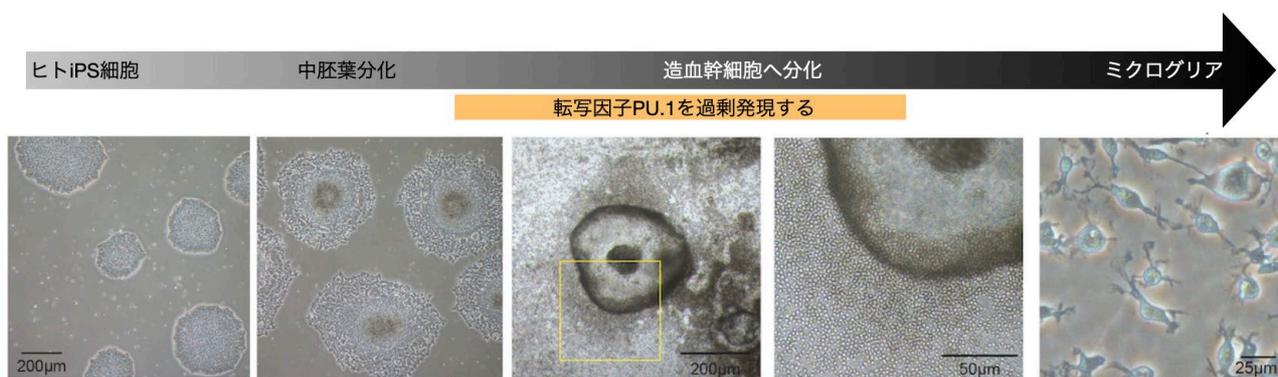


図 2. ヒト iPS 細胞から造血前駆細胞を経て、ミクログリアを作製します。

ii. hiMGLs はヒトミクログリアとよく似た性質を持つ

トランスクリプトーム解析（注 10）を行い、hiMGL の遺伝子発現パターンについて、単核球やマクロファージおよび先行研究における iPS 細胞由来ミクログリアと比べて、hiMGLs は最もヒト脳内のミクログリアに近い性質を持つことが分かりました。フローサイトメトリー（注 11）および免疫染色法（注 12）を用いて、回収した細胞の 90%以上に、ミクログリア特異的なマーカー

ータンパク質 (IBA1, CX3CR1, P2RY12, TMEM119 など)の発現が確認されました。これにより細胞選択的濃縮を行わなくとも、今回開発した方法を用いることで高純度なミクログリアを得ることが出来ました。次に、hiMGLs がミクログリアの正常な生理機能を示すかどうかについてさまざまな評価を行いました。ビーズやアミロイドβに対する貪食能 (注 13) を検討したところ、hiMGLs は高い貪食能を有することを証明しました。さらに、エンドトキシン刺激により、IL1α や IL1β などの炎症性サイトカイン (注 14) の分泌が大きく増加しました。特筆すべきは、近年新たなアルツハイマー病の発症機構として注目されているインフラマソーム (注 15) の形成も、hiMGLs の中に観察できました。以上から、hiMGLs はヒト脳内ミクログリアと同様な生理機能を持っていると考えられます。

iii. 疾患解析モデルの構築

今回開発したミクログリアを疾患解析ツールとして用いるために、マウス海馬から採取した初代培養ニューロンと hiMGLs の共培養を行いました。ニューロンと共培養した hiMGLs は、ラミファイド状の正常時ヒト脳内ミクログリアと似た形態を示し、細胞面積も 5 倍以上に増加しました。続いて、共培養したニューロンの樹状突起スパイン (注 16) について解析を行いました。hiMGLs と共培養したニューロンの方がより多くのスパインを持つことがわかりました (図 3)。また、カルシウムイメージング (注 17) を用いてニューロンの活動を観察した結果、hiMGLs と共培養したニューロンのカルシウム振動はより同期性を持つ (つまり振動強度が高く、振動頻度が低い) ことがわかりました (図 4)。これら結果から、hiMGLs はニューロンと相互作用し、ニューロンの成熟や活動に影響をおよぼすと考えられます。

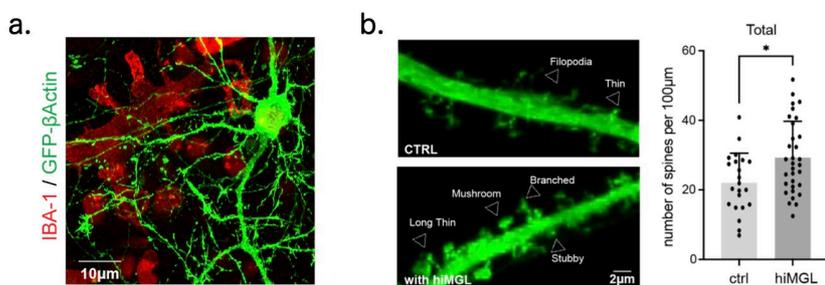


図 3. a. hiMGLs とマウスニューロンを 2 週間共培養しました。b. hiMGLs と共培養したニューロンの方が、より数多くの樹状突起スパインを持っていました。

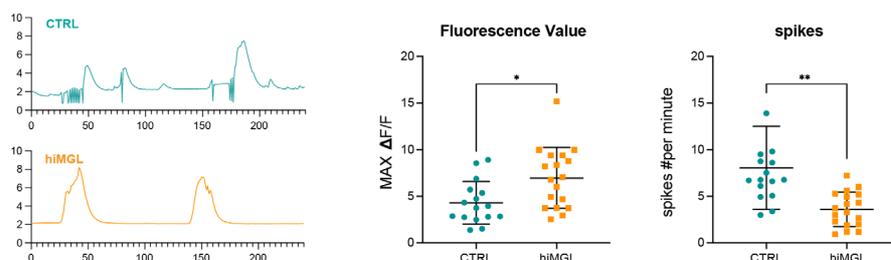


図 4. hiMGLs と共培養したニューロンの方が、より規律性のある発火パターンを示しました。

3. 今後の展望

本研究では、細胞選択的濃縮を省略可能な、ヒト iPS 細胞から短期間で大量のミクログリアを分化誘導できる手法を開発しました。これにより作製した細胞に hiMGLs と名付けました。遺伝子発現プロファイルや、生理機能などの解析から、hiMGLs はヒトミクログリアと類似な性質を持つことが確認できました。

本研究で開発したヒトミクログリアの分化誘導法は、ミクログリアの生理機能や、ミクログリアが関連する多様な疾患解析に適応可能です。そして、アルツハイマー病などさまざまな神経変性疾患の病態メカニズムの解明や、治療法開発に役立つと考えられます。さらに、ミクログリアの細胞置換療法（注 18）が有効な神経疾患の治療法として、細胞医薬品の創出にも貢献できると期待されます。

4. 特記事項

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 再生医療実用化研究事業「精神・神経疾患特異的 iPS 細胞を用いた創薬研究」、再生医療実現拠点ネットワークプログラム「神経疾患特異的 iPS 細胞を活用した病態解明と新規治療法の創出を目指した研究」、JSPS 科研費 JP21J12528, JP20H00485, 21H05633 の支援によって行われました。

5. 論文

英文タイトル：Single Transcription Factor Efficiently Leads Human Induced Pluripotent Stem Cells to Functional Microglia

タイトル和訳：単一転写因子の過剰発現によるヒト iPS 細胞からのミクログリア分化誘導法開発

著者名：孫怡姫、尾崎（本田）富美子、吉松祥、森本悟、渡部博貴、岡野栄之

掲載誌：Inflammation and Regeneration

DOI：10.1186/s41232-022-00201-1

【用語解説】

- (注 1) ミクログリア：中枢神経系細胞の一つで、脳実質内唯一の常在性免疫細胞である。
- (注 2) iPS 細胞：血球細胞などの体細胞に特定の転写因子を導入することによって、あらゆる組織や細胞への分化能と自己増殖能を獲得した細胞である。
- (注 3) アルツハイマー病：進行性脳疾患であり、記憶や思考能力がゆっくりと障害される。高齢者における認知症の最も一般的な原因である。
- (注 4) 前頭側頭型認知症：大脳の前頭葉や側頭葉を中心に神経変性が発生し、人格変化や行動障害、失語症、認知機能障害、運動障害などが緩徐に進行する神経変性疾患である。
- (注 5) 転写因子：DNA と結合するタンパク質の一群で、遺伝子の発現量を制御する。
- (注 6) 中胚葉：動物の発生初期に区別される細胞の一群。
- (注 7) 卵黄嚢：妊娠期における、卵黄を覆う膜状の組織で、胎生初期における造血の場。
- (注 8) PU.1：造血幹細胞から各種血液細胞への分化進行決定に重要な役割を果たす転写因子。
- (注 9) Tet-On システム：化合物の結合により、遺伝子の発現を正に制御できる方法の一つ。
- (注 10) トランスクリプトーム解析：遺伝子の発現状態を計測する手法の一つ。

- (注 11) フローサイトメトリー：細胞（あるいは他の粒子）を1列に並べてレーザーを通過させることで検出、計数、および選別を行う技術。
- (注 12) 免疫染色法：抗体による抗原を認識し、また発色反応と組み合わせて、特定の物質を可視化する方法。
- (注 13) 貪食能：免疫系の細胞が生体に不要な物質を取り込み、分解する能力。
- (注 14) サイトカイン：炎症の重要な調節因子で、細胞から分泌される低分子のタンパク質の総称。
- (注 15) インフラマソーム：炎症反応を惹起するための細胞内タンパク質複合体である。
- (注 16) 樹状突起スパイン：神経細胞の樹状突起にあるトゲ（棘）状の構造で、神経伝達物質と結合し、神経細胞の活動電位の発生に寄与する。
- (注 17) カルシウムイメージング：蛍光を発する特殊なセンサーを用いて、神経細胞が活動する時に細胞内部で起こるカルシウムイオン濃度の上昇を蛍光顕微鏡によって直接観察する方法。
- (注 18) 細胞置換療法：細胞移植により、老化や機能障害がある細胞を健常なものにより置換される治療法。

※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させていただいております。

【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@keio.jp
<http://www.okano-lab.com/>

【本リリースの配信元】

慶應義塾大学 信濃町キャンパス総務課：山崎・飯塚・奈良
〒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
<https://www.med.keio.ac.jp>

※本リリースのカラー版をご希望の方は【本リリースの配信元】までご連絡ください。