



2012年3月28日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

皮膚の細胞から2週間で神経幹細胞を作成することに成功

- 脊椎損傷など患者本人の神経幹細胞を使用した再生医療に期待 -

神経幹細胞（注1）は、脊髄損傷などの神経を損傷した動物モデルへの移植で症状改善を示すことがわかっています。近年のiPS細胞（注2）の発見から、患者さん本人から自己の神経幹細胞を誘導できる可能性が期待されていますが、iPS細胞を経て神経幹細胞を得るのに、半年以上の培養期間を要することが大きな問題となっていました。

今回、慶應義塾大学医学部生理学教室の赤松和土（あかまつわど）講師、岡野栄之教授らの研究グループは、マウスおよびヒトの線維芽細胞にiPS細胞を作る4つの因子（Oct4, Sox2, Klf4, cMyc）を導入したのち、iPS細胞を作らずに神経幹細胞を誘導する培養条件で培養を行ったところ、約2週間で神経幹細胞を作成することに成功しました。この神経幹細胞（diNSC：directly induced neural stem cell）は、iPS細胞やES細胞から誘導した神経幹細胞に比べて極めて速いスピードで分化成熟するため、培養条件を工夫することにより、分化しにくく腫瘍のもとになる細胞と区別して培養することが可能になります。この方法によってヒトにおいても約2週間で線維芽細胞から神経幹細胞を誘導することが可能になりました。今後安全性をさらに検討したうえで、迅速な細胞移植を必要とする脊髄損傷などの急性神経損傷や筋萎縮性側索硬化症（ALS）などの急速に進行する神経変性疾患に対する細胞移植治療に応用することが期待されます。この研究成果は2012年3月28日（米国東部時間）に米国オンライン「Stem Cells」誌に掲載されます。

1. 背景

神経幹細胞は、脊髄損傷や神経変性疾患などの難病に対して行う細胞移植のソースとして有効であることが期待されています。近年のiPS細胞の発見により、患者さん本人からiPS細胞を作って、そのiPS細胞から神経幹細胞を誘導することが可能になり、自分の細胞を治療に使用できる自家移植が行えるようになると期待されています。しかしながら、現在の技術では、患者さんの細胞からiPS細胞を経て神経幹細胞を作成するのに、2ヶ月から6ヶ月と長い期間を要します。それに加えて、iPS細胞は細胞の株ごとに安全性や分化の方向性が大きく異なることがわかっており、安全なiPS細胞であることを検証するにはさらに長い期間を要するのが現状です。さらに、脊髄損傷においては、患者さんの症状が固定する前に神経幹細胞を移植しないと効果がないことが明らかになっており、動物における実験の結果から推測すると、その期間は受傷後約2-4週間以内と考えられています。そのため、このように細胞移植が有効な期間に限られる疾患では、iPS細胞の移植技術を用いても患者さん本人の細胞を治療に使うことは難しいのではないかと考えられてきました。本研究グループはこの問題を解決するために、患者さん自身の細胞から短い時間で安全な神経幹細胞を得る方法を検討しました。

2. 研究成果

今回、マウスの線維芽（せんいが）細胞にiPS細胞を作る4つの因子（Oct4, Sox2, Klf4, cMyc）を導入したのち、iPS細胞を作らずに神経幹細胞を誘導する培養条件で培養を行ったところ、約2週間で神経幹細胞を含む細胞集団であるニューロスフェア（注3）が誘導されました。さらに培養条件を改良することにより、約2週間の培養でもとの線維芽細胞の約100倍の量の神経系の細胞を誘導することが可能でした（図1）。

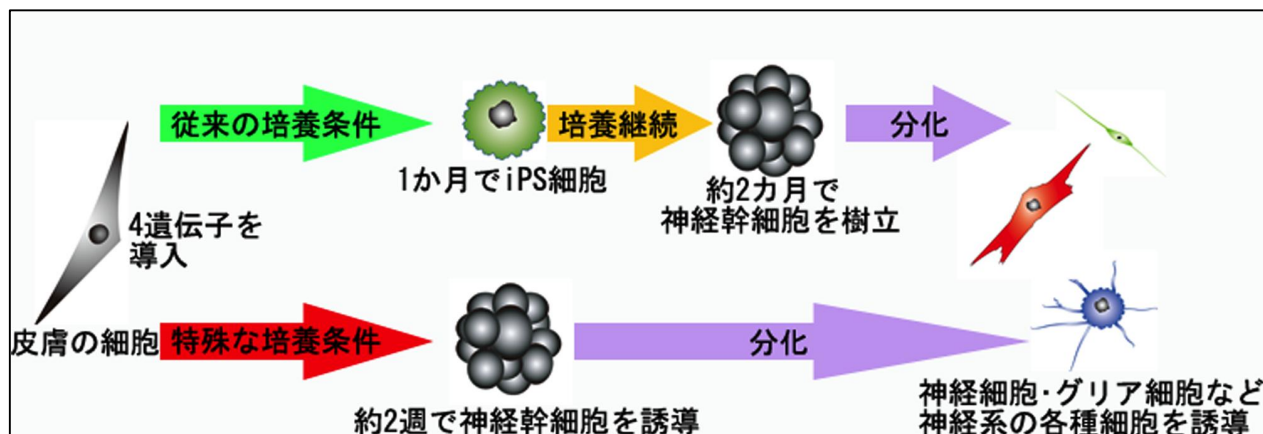


図1 皮膚の細胞から神経幹細胞の直接誘導

この神経幹細胞(diNSC : directly induced neural stem cell)は、従来のES細胞やiPS細胞から誘導された神経幹細胞とは異なり、グリア細胞（注4）（アストロサイトやオリゴデンドロサイト）を多く産生する成熟型の神経幹細胞に極めて速いスピードで分化することがわかりました。diNSCは、胎児の線維芽細胞、成体の線維芽細胞など、元の細胞の種類によって性質が少し異なりますが、成体の線維芽細胞から誘導した場合、最も高い効率で成熟型の神経幹細胞が誘導されました（図2）。これまで脊髄損傷モデル動物への細胞移植実験では、成熟型の神経幹細胞は、未熟な神経幹細胞に比べて治療効果が高いことが示されており、ES細胞やiPS細胞から誘導した神経幹細胞は、成熟型の神経幹細胞へと変化させるために、さらに数週間の培養を加えていましたが、今回の方法ではその必要はありません。

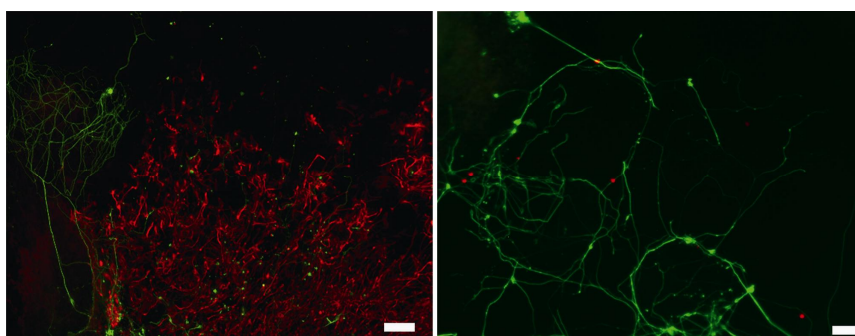


図2 （図の緑は神経細胞を、赤はグリア細胞を示す。）

左：成体線維芽細胞から誘導された神経幹細胞の分化像
右：ES細胞から誘導された神経幹細胞の分化像

右の図と比較して、左の図がグリア細胞が多く産生されていることがわかります。

iPS細胞から誘導した神経幹細胞は、神経幹細胞を作り出す能力が悪い細胞を含む場合が多く、特

に成体の線維芽細胞から誘導した場合はそのような細胞を多く含む事が知られています。このような細胞はiPS細胞に似た状態のまま存在し続け、生体内に細胞集団を移植したあとで腫瘍を形成するものになることが知られています。今回の方法で得られた神経幹細胞の集団は、途中まではiPS細胞の誘導と同じ操作をしているために、iPS細胞に似た性質を持つ細胞が含まれている可能性はありますが、極めて速く分化する細胞が多いために、EGFという成長因子（注5）を用いると、iPSに似た性質を持つ細胞は生存できず、成熟した神経幹細胞のみが生存できるような培養条件で増幅させることが可能でした。その結果、今回の方法で得られた神経幹細胞には、腫瘍のもとになるような多能性を有する細胞は、10,000個に1個以下に抑えられました。この結果は、この方法がiPS細胞を経由して神経幹細胞を誘導するよりも安全な細胞を誘導できることを示唆しています。

この方法は、ヒト線維芽細胞においても応用することが可能であり、ヒトの皮膚から採取し培養した線維芽細胞からも、神経幹細胞を含む細胞集団であるニューロスフェアを誘導することができました(図3)。このニューロスフェアは線維芽細胞に4つの因子 (Oct4, Sox2, Klf4, cMyc) を導入後約18日間で誘導されており、そこからニューロンやグリア細胞が誘導されたことから、神経幹細胞を含んでいることが確認されました。これまでヒトiPS細胞を得るのに2ヶ月程度、そこから神経幹細胞を誘導するのに1-2ヶ月を要していたことを考えると、誘導に必要な期間を大きく短縮したと考えられます。

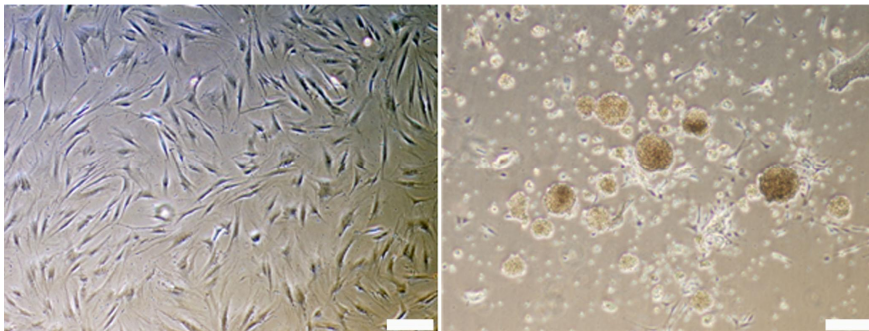


図3： 左：成体ヒト線維芽細胞 右：成体ヒト線維芽細胞から直接誘導された神経幹細胞

3. 脊髄損傷など再生医療への応用

今後の再生医療において、患者さん本人の細胞から採取して樹立したiPS細胞は、神経幹細胞を得て患者さん本人の治療に使えると期待されています。しかしながら、脊髄損傷など細胞移植が有効な期間が限られる疾患では、いかに迅速に患者さん本人の細胞を準備できるかということが、自家移植の実現のためには重要となります。今回の結果ではヒト細胞においても線維芽細胞から約2週間で神経幹細胞を得ることに成功しており、現在の方法では諦めざるを得なかった自家移植の可能性に大きな期待が得られる結果です。今後はこの方法で得られたヒト神経幹細胞のさらなる安全性や有効性を検討し、将来の自家細胞移植治療の臨床研究へと繋げていきたいと考えています。

4. 論文について

Takeshi Matsui, Morito Takano, Kenji Yoshida, Soichiro Ono, Chikako Fujisaki, Yumi Matsuzaki, Yoshiaki Toyama, Masaya Nakamura, Hideyuki Okano*, Wado Akamatsu,*

*責任著者

Neural stem cells directly differentiated from partially reprogrammed fibroblasts rapidly acquire gliogenic competency. *Stem Cells* (2012), (in press: 2012)

[皮膚線維芽細胞から直接にグリア細胞を生み出す神経幹細胞を作成]

【用語解説】

注1．神経幹細胞

ニューロンおよびグリア細胞へ分化する細胞を供給する能力を持つ神経系の幹細胞

注2．iPS細胞

体細胞へ数種類の遺伝子を導入することにより、ES細胞（胚性幹細胞）のように非常に多くの細胞に分化できる能力と、分裂増殖を経てもそれを維持できる自己複製能を持たせた細胞

注3．ニューロスフェア

神経幹細胞を含む球状の神経系細胞の塊。神経幹細胞を浮遊培養で継代培養する方法として用いられる。

注4．グリア細胞

神経系を構成する神経細胞ではない細胞の総称でありアストロサイト、オリゴデンドロサイト、シュワン細胞などを含む。

注5．EGF という成長因子

Epidermal Growth Factor; EGF は細胞の成長と増殖の調節に重要な役割をする。最も成熟したタイプの神経幹細胞を増殖させる能力がある。

本リリースは文部科学記者会、文部科学省科学記者会、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。

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

岡野栄之(教授)、 E-mail: hidokano@a2.keio.jp

赤松和土(講師)、 E-mail: akamatsu@a7.keio.jp

【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(富田・吉野)

TEL:03-5363-3611、FAX: 03-5363-3612 E-mail: med-koho@adst.keio.ac.jp

<http://www.med.keio.ac.jp/>

以上