

2015年2月13日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

ヒト iPS 細胞由来の神経幹細胞移植後の腫瘍化メカニズムを解明

脊髄損傷に対する iPS 細胞由来の神経幹細胞移植の安全性確保に向けて一歩前進

慶應義塾大学医学部生理学教室（岡野栄之教授）と同整形外科学教室（中村雅也教授）は、JST 再生医療実現拠点ネットワークプログラムにおいて、損傷した脊髄を再生させる治療法の開発に取り組んでいます。これまでに、岡野教授らは京都大学の山中伸弥教授（京都大学 iPS 細胞研究所）らとの共同研究で、ヒト iPS 細胞（注1）から神経幹細胞を分化誘導し、これを免疫不全マウス脊髄損傷モデルに移植を行い、良好な運動機能の回復を得ることに成功しています。しかし、使用する iPS 細胞株によっては、移植後に一時的に運動機能が改善するものの、長期経過観察後に神経系腫瘍を形成してしまうことが分かりました。この腫瘍では iPS 細胞作製時に導入した *OCT4* 遺伝子の活性化を認めており、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析の結果、上皮間葉転換（注2）が腫瘍の浸潤に関与していることが分かりました。

本研究成果は2015年2月12日正午（米国東部時間）に「*Stem Cell Reports*」オンライン版に公開されます。

1. 研究の背景

脊髄損傷は、損傷部以下の知覚・運動・自律神経系の麻痺を呈する中枢神経系の損傷です。医療の発達した現代においても、損傷された脊髄を直接治療する方法は確立されていません。このため、現在世界中の研究者が脊髄損傷に対する治療法開発にしのぎを削っています。これまでに当研究室では、2002年にラット脊髄損傷に対するラット神経幹細胞移植の有効性を示し、2005年には霊長類コモンマーマセット脊髄損傷に対するヒト胎児脳由来の神経幹細胞移植の有効性を報告してきましたが、中絶胎児組織を用いる点で倫理的問題から日本での臨床応用は困難な状況です。その様な中、2006年に京都大学の山中伸弥教授らにより iPS 細胞が開発されました。iPS 細胞は体細胞に数種類の初期化因子を導入することで樹立でき、神経や筋肉などに分化する多分化能を持っています。iPS 細胞を用いることで前述した倫理的問題が回避されると考えられ、将来の臨床応用に大きな期待が集まっています。すでに慶應義塾大学と京都大学の共同研究チームは、2011年にマウス脊髄損傷に対するヒト iPS 細胞由来の神経幹細胞移植の有効性を報告しています。しかし、使用する iPS 細胞株によっては、移植後に一時的に運動機能が改善するものの、長期経過観察後に神経系腫瘍を形成してしまうことが分かりました。そこで本研究では、腫瘍化のメカニズムを解明するため、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析を行いました。

2. 研究の概要と成果

(1) ヒト iPS 細胞由来の神経幹細胞はマウス損傷脊髄内で生着し、一時的に運動機能を改善

今回、独自の培養方法を用いてヒト iPS 細胞 (253G1 クローン: 顔面皮膚線維芽細胞にレトロウイルスを用いて OCT4、SOX2、KLF4 の 3 因子を導入して樹立) から神経幹細胞を分化誘導し免疫不全マウス脊髄損傷モデルに移植を行いました。移植後約 2 ヶ月のマウス脊髄内で、ヒト iPS 細胞由来の神経幹細胞は生着し、ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトの神経系 3 系統細胞 (注 3) へと分化していました。さらに、移植細胞の 40% 程度がニューロンへと分化し、マウス脊髄内ニューロンと双方向性にシナプスを形成していることを、免疫組織学的解析および電子顕微鏡による解析から確認しました。3 種類の後肢の運動機能評価法で検討したところ、すべての評価法で移植群は良好な運動機能の改善を認めました。

(2) 移植した後、長期経過観察後の腫瘍形成

次に、移植後約 4 ヶ月まで長期に経過観察を行い、移植細胞の安全性を評価しました。その結果、253G1 由来の神経幹細胞移植群では、一度回復した運動機能は徐々に悪化することが分かりました。運動機能悪化の原因解明のため組織学的に解析したところ、Nestin というマーカー陽性の神経系の腫瘍が形成されていました。

(3) OCT4 導入遺伝子の活性化による腫瘍形成

腫瘍化の原因を調べるため、未分化細胞のマーカー遺伝子である OCT4、SOX2、KLF4 の発現を RT-PCR で定量的に評価しました。その結果、253G1 由来の神経幹細胞移植後に、iPS 細胞作製時に導入した OCT4 遺伝子の活性化を認め、これが腫瘍形成に関与している可能性が示唆されました。

(4) 上皮間葉転換による腫瘍細胞の浸潤

次に、次世代シーケンサーを用いて網羅的遺伝子解析を行った結果、253G1 由来の神経幹細胞移植群では細胞外基質の形成、間葉系細胞分化や上皮間葉転換などが促進していることが分かりました。これらは、腫瘍細胞の浸潤に関与しているものと考えられました。さらに、腫瘍化や腫瘍細胞の浸潤に関与するとされている Wnt/ β -catenin シグナルが活発に働いていることが分かりました。

3 研究の意義・今後の展開

臨床応用に向けたヒト iPS 細胞由来の神経幹細胞移植の安全性確保のため、導入遺伝子の活性化の危険性がない、すなわちゲノム挿入のない integration-free iPS 細胞を用いることが重要であることが分かりました。今回の結果に基づき、移植細胞の安全性、特に造腫瘍性に関するスクリーニング法を構築していく必要があると考えています。

4 特記事項

本研究は、文部科学省・科学技術試験研究委託事業 再生医療の実現化プロジェクト「再生医療の実現化を目指したヒト iPS 細胞・ES 細胞・体性幹細胞研究拠点」、および 独立行政法人科学技術振興機構・再生医療実現拠点ネットワークプログラム (疾患・組織別実用化研究拠点)「iPS 細胞由来神経前駆細胞を用いた脊髄損傷・脳梗塞の再生医療」によりサポートされたものです。

5 論文について

タイトル(和訳):“ Long-Term Safety Issues of iPSC-Based Cell Therapy in a Spinal Cord Injury Model: Oncogenic Transformation with Epithelial-Mesenchymal Transition ”

(iPS細胞を用いた脊髄損傷治療の長期的安全性の問題:上皮間葉転換による腫瘍化)

著者名: 海苔聡、岡田洋平、西村空也、佐々木貴史、板倉剛、小林喜臣、Francois Renault-Mihara、清水厚志、古家育子、吉田怜、工藤純、小池正人、内山安男、池田栄二、戸山芳昭、中村雅也**、岡野栄之* (* and ** Corresponding authors)

掲載誌: *Stem Cell Reports* オンライン版で2015年2月12日正午(米国東部時間)に公開

【用語解説】

(注1) iPS細胞(人工多能性幹細胞:induced pluripotent stem cell)

体細胞に特定因子を導入することにより樹立される、ES細胞に類似した多能性幹細胞。2006年に山中教授の研究グループにより世界で初めてマウス体細胞を用いて樹立された。ヒトのiPS細胞は翌2007年に同グループにより樹立され、これを本研究で用いている。

(注2) 上皮間葉転換

上皮細胞がその細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を失い、遊走、浸潤能を得ることで間葉系様の細胞へと変化する現象であり、発生過程、創傷治癒や組織の線維化、癌の浸潤、転移などにおいて出現することが知られている(ウィキペディアより一部修正し転載)

(注3) ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトの神経系3系統細胞

ニューロン(神経細胞)は、神経系を構成する細胞で、その機能は情報処理と情報伝達に特化しており、同細胞へ入力刺激が入ってきた場合に、活動電位を発生させ、他の細胞に情報を伝達することである。アストロサイトは中枢神経系に存在するグリア細胞の1つである。多数の突起を持ち、その間に近傍を走行する神経線維が配置される。脳や脊髄などの神経組織では、他の通常組織において支持のために存在する膠原線維が乏しく、神経線維の保持にアストロサイトが支持細胞としてその役を果たしている。もう一つの役割として、血液脳関門の閉鎖機能の維持に寄与していることが示唆されている。オリゴデンドロサイトは、小型で比較的突起の少ないグリア細胞であり、中枢神経系内での髄鞘形成および巻きついている神経細胞の維持と栄養補給の機能を有する。

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
岡野 栄之(おかの ひでゆき)教授
〒160-8582 東京都新宿区信濃町3-5
TEL: 03-5363-3746 FAX:03-3357-5445
E-mail:hidokano@a2.keio.jp

慶應義塾大学医学部整形外科学教室
中村 雅也(なかむら まさや)教授
TEL: 03-5363-3812 FAX: 03-3353-6597
E-mail: masa@a8.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:吉岡、三船
〒160-8582 東京都新宿区信濃町3-5
TEL 03-5363-3611 FAX 03-5363-3612
E-mail: med-koho@adst.keio.ac.jp
<http://www.med.keio.ac.jp/>