

＜シンポジウム 3—1＞中枢神経系の再生・次なる半世紀

iPS 細胞技術と神経疾患研究

岡野 栄之

(臨床神経, 49 : 825—826, 2009)

Key words : 人工多能性幹細胞, 胚性幹細胞, 神経幹細胞, 脊髄損傷, 腫瘍形成能

人工多能性幹細胞 (induced Pluripotent Stem cell, iPS 細胞) は、皮膚の線維芽細胞などの体細胞に Sox2, Oct3/4, Klf4, (c-Myc) などの少数の遺伝子を導入するだけで、試験管内で誘導される。iPS 細胞は、胚性幹細胞 (ES 細胞) と同等の多能性を有する幹細胞であり、患者さん自身の体細胞から誘導することができる。このため、初期胚をもちいるという生命倫理的な問題や、他家移植にともなう免疫抑制の回避という二重の意味で、iPS 細胞技術は、多いに注目されるようになった。現在、iPS 細胞は、ヒト、マウス、ラット、マカクサルを始めとする多くの生物種から樹立されるようになった。しかしながら、iPS 細胞は、由来細胞、導入遺伝子の種類、遺伝子導入の有無や方法などによって、かなり性質がことなることが明らかとなってきている。そのため、臨床応用を踏まえて、iPS 細胞をもちいた中枢神経系の再生医療のための前臨床研究において、安全性と有効性を検討した。

これまで私たちは多能性幹細胞をもちいた脊髄損傷の治療研究をおこなってきている。マウスの脊椎損傷モデルを作って、損傷後 9 日の、もっとも治療効果が高い亜急性性にマウス ES 細胞由来の神経幹・前駆細胞を移植し、その後の回復の度合いを組織学的・細胞生物学的・生理学的な様々な手法で測定をおこなった。ES 細胞由来の一次神経幹・前駆細胞 (Naka et al., 2008 ; Okano and Temple, 2009) では、主にニューロンだけが生まれたが、同二次神経幹・前駆細胞を移植したばあいには、ニューロンだけではなくグリア細胞も多く生まれた。さらに同二次神経幹・前駆細胞を移植したばあいには、損傷神経の再髄鞘化や、血管新生の誘導などがおこり、移植した細胞が、生体のもつ回復機能を助けて働いているということが明らかとなった。このことは、後肢の機能回復にも反映され、ES 細胞由来の一次神経幹・前駆細胞では治療効果はなかったが、同二次神経幹・前駆細胞では治療効果があることが示された。

次に私達は、マウス iPS 細胞を使った治療可能性を探索するために、まず安全性について検討をおこなった。京都大学の山中伸弥教授との共同で、体細胞の由来や樹立法がことなる、様々なマウス iPS 細胞から神経系前駆細胞を分化誘導し、マウス脳へ移植する試験をおこない、その結果、iPS 細胞の樹立にもちいた体細胞の由来が移植安全性に大きく影響すること

をみだした (Miura et al., 2009)。また、由来が同じでも iPS 細胞のクローンごとに、その腫瘍原性がことなることが明らかとなった。そこで、次に、この方法で安全性を確認した iPS 細胞クローンをもちいて、マウス脊髄損傷モデルの治療実験をおこなった。安全性が確認されている Nanog-iPS 細胞クローンから誘導した神経幹・前駆細胞では ES 細胞と同様に、三大細胞系譜に分化することが可能で、有意な機能回復の効果が確認され、脊髄内でも腫瘍形成もされなかった。これまでの私達の研究成果は、適切な iPS 細胞クローンを選択することにより、iPS 細胞由来の二次神経幹・前駆細胞は、ES 細胞由来の細胞とほぼ同等の治療効果と安全性を有することを示している。

また、iPS 細胞技術は、単に再生医療応用のみではなく、疾患モデル細胞研究の面から注目されてきている。私たちは、多くの研究機関と共同して、iPS 細胞技術をもちいて、パーキンソン病や網膜色素変性症などの神経変性疾患モデル細胞の作成を試みている。iPS 細胞技術を活用することにより、稀少な臓器内の体性幹細胞を試験管内で大量に調整する事が可能になるため、メタボローム解析、プロテオーム解析などの網羅的解析を可能にし、細胞の分化能と遺伝子のリプログラミングの研究や、ヒト疾患モデル細胞の提供により、疾患の原因の解明や創薬研究 (開発研究、毒性の検討) に大きく貢献し、医学研究の大きなパラダイムシフトを産み出すものと期待される。

文 献

- 1) Naka H, Nakamura S, Shimazaki T, et al: Requirement for COUP-TFI and II in the temporal specification of neural stem cells in central nervous system development. *Nature Neurosci* 2008; 11: 1014—1023
- 2) Okano H, Temple S: Cell types to order: Temporal specification of CNS stem cells. *Current Opinion in Neurobiology* 2009; 19: 112—119
- 3) Miura K, Okada Y, Aoi T, et al: Variation in the safety of induced pluripotent stem cell lines. *Nature Biotechnol* 2009; 27: 743—745

Abstract**Regeneration of the central nervous system using iPS cell-technologies**

Hideyuki Okano, M.D.

Department of Physiology, Keio University School of Medicine

Induced pluripotent stem (iPS) cells are pluripotent stem cells directly reprogrammed from cultured mouse fibroblast by introducing *Oct3/4*, *Sox2*, *c-Myc*, and *Klf4*. Cells obtained using this technology, which allows the ethical issues and immunological rejection associated with embryonic stem (ES) cells to be avoided, might be a clinically useful source for cell replacement therapies. We found that secondary neurospheres (SNSs) generated from various mouse iPS cell showed their neural differentiation capacity and teratoma formation after transplantation into the brain of immunodeficient NOD/SCID mice. We found that origin (source of somatic cells) of the iPS cells are the crucial determinant for the potential tumorigenicity of iPS-derived neural stem/progenitor cells and that their tumorigenicity results from the persistent presence of undifferentiated cells within the SNSs. Surprisingly, SNSs derived from c-Myc minus iPS cells generated without drug selection showed robust tumorigenesis, in spite of their potential to contribute adult chimeric mice without tumor formation. Furthermore, we examined whether the transplantation of non-tumorigenic *Nanog*-iPS-derived SNSs into mouse spinal cord injury (SCI) model could promote locomotor function recovery. As a result, we found that properly pre-evaluated iPS clone-derived neural stem/progenitor cells may be a promising cell source for future transplantation therapy of SCI.

(Clin Neurol, 49: 825—826, 2009)

Key words: induced pluripotent stem cells (iPS cells), embryonic stem cells (ES cells), neural stem cells, spinal cord injury, tumorigenicity
