

## <シンポジウム (1)—4—2> ALS に対する再生医療の開発

### 幹細胞生物学を応用した神経疾患病態研究

赤松 和土

(臨床神経 2012;52:937-938)

Key words : 直接誘導, iPS細胞, ES細胞, 神経幹細胞

近年, 多能性幹細胞から誘導した神経幹細胞の移植は神経変性疾患の治療の新たな方法として期待されている. iPS細胞技術の登場により, このような細胞移植治療において自家移植の可能性が切り開かれると同時に, ALSをふくむ遺伝性神経疾患患者からのiPS細胞を作成し神経系細胞を*in vitro*で分化誘導することにより新たな治療方法・創薬のモデルとして使用できることが期待されている. しかしながら, ヒト多能性幹細胞からの*in vitro*での神経分化誘導において①培養期間が長期である②神経幹細胞の性質が由来するiPS/ES細胞クローンの性質に大きく左右される<sup>1)</sup>という点が問題となってきた. たとえば脊髄損傷のような疾患では受傷後慢性期にいたるまでに細胞を移植できなければほとんど効果がないことも知られているため<sup>2)</sup>, 現在の技術ではiPS細胞由来神経幹細胞を迅速に自家移植することは不可能である. 一方, 神経疾患患者iPS細胞の解析においても, *in vitro*での分化誘導に数カ月を要するため, 多くの症例から同時にiPS細胞を作成し解析することは現状では非現実的である.

多能性幹細胞もしくは患者の体細胞から効率よく目的の神経系細胞を誘導するシステムを開発することは, iPS細胞をもちいた神経疾患病態研究の効率化と再生医療の実現のために共通の目標である. われわれは多能性幹細胞が外界のシグナルを排除すると急速に神経系へと分化する性質<sup>3,4)</sup>を利用してヒトES/iPS細胞から神経幹細胞を誘導し, その自己増殖能を利用してニューロスフェア<sup>5)</sup>を形成させた. この方法によって従来2カ月以上を要していた分化誘導期間が2週間に短縮された. この方法をもちいると, 従来では神経系への分化誘導効率がかきわめて低いクローンでも比較的高効率に

神経分化誘導をおこなうことが可能である. さらに分化誘導シグナルを低分子化合物をもちいて制御することにより, 誘導期間を1週間以下に短縮することが可能であった. 更にわれわれは分化培養の条件を最適化することにより, 運動ニューロンをえることにも成功しており, この方法はALSモデルiPS細胞の解析には役立つことを期待している.

われわれはさらに, 患者の体細胞から神経幹細胞をえるばあいに, iPS細胞の樹立を経ずに誘導することにより, 分化誘導期間が短縮できるのではないかと考えた. マウス線維芽細胞にiPS樹立のための4因子(Oct4, Klf4, Sox2, cMyc)を導入しリプログラミングし, 直接に神経幹細胞誘導培養をおこなうことにより, iPS細胞を経ずに神経幹細胞を約2週間で誘導することに成功した<sup>6)</sup>(Fig. 1). これらの神経幹細胞はiPS細胞由来の神経幹細胞よりも速い速度で分化するため, 細胞移植に必要な成熟型の神経幹細胞を迅速に調整することができる. iPS細胞を分化誘導し個体へと細胞移植をおこなった際に生じる奇形腫はNanog陽性の未分化細胞から生じると考えられているが, われわれが直接誘導した神経幹細胞は分化速度が速いため, 培養条件を最適化することによって未分化細胞の混入を防ぐことが可能である. われわれはさらにヒト線維芽細胞でも同様の手法により遺伝子導入後18日間で神経幹細胞をえることに成功し, 従来iPSを経由すると6カ月近く必要であった患者自身の神経幹細胞をえるステップを大幅に短縮することができた.

ヒト多能性幹細胞(ES/iPS細胞)からの神経分化誘導法は, その用途によって必要とされる所要時間, 安全性, 細胞純度がことなってくる. 今後ヒトiPS細胞をもちいた神経疾患の病

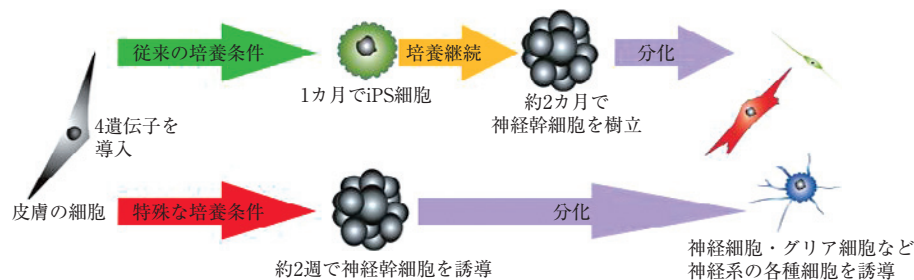


Fig. 1

態解析は、現在の遺伝性の疾患中心の解析から、より一般的な孤発性の疾患にシフトしていくことが考えられる。大量の患者サンプルからいかに効率よく迅速に神経分化誘導するシステムを開発できるかどうか、今後の多能性幹細胞をもちいた神経疾患病態解析のもっとも大きなポイントであるとわれわれは確信している。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれもありません。

#### 文 献

1) Miura K, Okada Y, Aoi T, et al. *Nat Biotechnol* 2009;27:

743-745.

2) Ogawa Y, Sawamoto K, Miyata T, et al. *J Neurosci Res* 2002;69:925-933.

3) Tropepe V, Hitoshi S, Sirard C, et al. *Neuron* 2001;30:65-78.

4) Akamatsu W, DeVeale B, Okano H, et al. *J Neurosci* 2009;29:2113-2124.

5) Akamatsu W, Fujihara H, Mitsuhashi T, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:4625-4630.

6) Matsui T, Takano M, Yoshida K, et al. *Stem Cells* 2012;30:1109-1119.

#### Abstract

### Exploring the neural diseases using stem cell technology

Wado Akamatsu

Keio University, School of Medicine

The rapid and efficient induction of neural stem cells (NSCs) from pluripotent stem cells is required for the research of patient-specific iPS cells and regenerative medicine to induce their own neural cells. Here, we induced NSCs from human pluripotent stem cells within 2 weeks and these clonal NSCs were expanded efficiently by their self-renewal ability. Further, we directly induced NSCs from both mouse and human fibroblasts using four reprogramming factors (Oct4, Sox2, Klf4, and cMyc) without the clonal isolation of induced pluripotent stem cells (iPSCs). Since these NSCs rapidly developed into mature gliogenic neural stem cells, we were able to purify these rapidly differentiating NSCs without contamination of differentiation-resistant pluripotent cells. These methods will facilitate high throughput screening of phenotypes appeared in neural cells induced from the somatic cells derived from sporadic neurodegenerative diseases.

(*Clin Neurol* 2012;52:937-938)

**Key words:** Direct induction, Induced pluripotent stem cells, Embryonic stem cells, Neural stem cells