

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2017) 第17巻:37-38.

平成27年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 1)CapSC細胞を用いた多発性硬化症における再髄鞘化療法を目指した基盤研究

板東 良雄

依 頼 稿 (報告)

平成 27 年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題

1) CapSC 細胞を用いた多発性硬化症における再髄鞘化療法を目指した基盤研究

The application of CapSC therapy to promoting remyelination in MS

研究代表者 板東 良雄

【研究の背景と目的】

多発性硬化症 (multiple sclerosis: MS) は中枢性炎症性脱髄疾患であり、オリゴデンドロサイト (oligodendrocytes:OL) が形成する髄鞘が壊されることにより脱髄や軸索障害が生じると考えられている。本邦における罹患率は約 10 人 /10 万人とされており、北欧・北米といった高緯度地域ほど高い罹患率になる傾向がある。したがって、本邦では北海道 (特に十勝・旭川地方) での罹患率が他の地域に比べて高いことが報告されている。本疾患に対する根治療法は現在のところ存在せず、対症療法が主な治療法となっている。一方、病理学的には脱髄を起こしている病変部位近傍にオリゴデンドロサイト前駆細胞 (Oligodendrocyte Progenitor Cells: OPC) が存在しているにも関わらず、髄鞘再生が起こっていないことも明らかとなっており、このような前駆細胞が何故髄鞘化しないのか、どのようにして髄鞘化に導くかが重要な問題となっている。一方、ES 細胞や iPS 細胞を用いた分化誘導実験においても OL を高純度に採取する方法は未だ確立されていない。

血管周細胞由来の CapSC (Capillary Stem Cells) は、本学第一内科の川辺教授らが同定した細胞であり、多分化能を有することが明らかとなっている。これまでの検討から、実際に神経系細胞にも分化する能力を有する可能性も見出されている。

そこで、本研究では CapSC から OPC を高純度に分化する確立し、CapSC をマウス生体内に移植することにより生体内での成熟 OL への分化や髄鞘化に関する解析・評価を行った。

【研究方法】

- (1) CapSC 細胞から OPC および OL への分化誘導
発生学に基づいた既存の方法 (Chandran et al., Development 2003; Bouhon et al., Stem Cells 2006) の一部を改良したものをを用いた。OPC への分化は bFGF/PDGF-AA 添加によって行った。また、OPC から OL への分化誘導実験は甲状腺ホルモン T3 をを用いた。OL の特異的マーカー (O1, O4, MBP など) の発現を指標に分子生物学および形態学的な検討により OL への分化を評価した。
- (2) CapSC 由来 OPC をを用いたマウス脳内細胞移植
CapSC 由来の OPC をハミルトンシリンジを用いて実際にマウス個体 (生直マウス) の脳内に細胞移植 (5 x10⁵ 個) を行い、その後の OL への分化や髄鞘化を組織学および生化学的に評価した。

【結 果】

CapSC から OPC への分化誘導に成功し (図 1)、培養条件によっては神経細胞にも分化し得ることを確認した (神経細胞の種類は未検討)。また、生後 2 日目のマウス新生児脳内に移植した CapSC 由来の OPC は 1 カ月後において脳内白質線維 (主に脳梁) に生着し、MBP 陽性の OL に分化し髄鞘を形成している可能性を

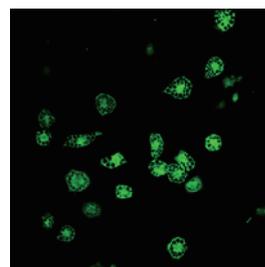


図 1 CapSC 由来 OPC から OL への分化誘導
成熟 OL のマーカー MBP 陽性の OL への分化が認められた。

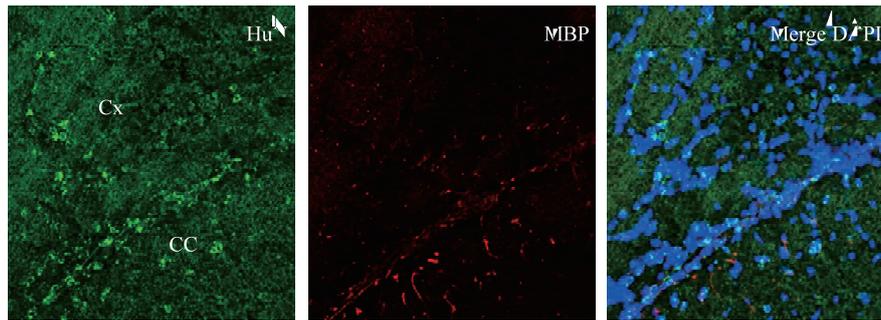


図2 CapSC 由来 OPC のマウス新生児脳内への細胞移植（移植後1カ月）
 CapSC 由来 OPC の検出にはヒト抗核抗体（HuN, 緑）を用いた。移植された細胞は主に脳梁およびその周囲の大脳皮質に生着し、脳梁においては一部の CapSC 由来 OPC が MBP 陽性（赤）の OL に分化していた。青色は DAPI による核染色を示す。（Cx：大脳皮質、CC：脳梁）

示唆する所見が認められた（図2）。ただし、生体内での分化効率は低く、移植細胞である OPC の状態や移植方法などのさらなる最適化は今後必要と考えられた。

【本研究の成果と将来性】

本研究では CapSC 細胞から OL への分化誘導プロトコルを確立した。さらに、CapSC 由来の OPC をマウス新生児脳内に移植した結果、脳内に生着し、一部の細胞において成熟 OL マーカーである MBP の発現が認められた。今後はさらに OL への分化効率を高め（OPC の状態を人為的に狙って制御する）、髄鞘形成不全 shiverer マウスやマウス多発性硬化症モデルなどの病態モデルへ細胞移植を行い、生体内における CapSC を用いた効果的な再髄鞘化プロトコルの確立を目指す。また、本技術は iPS 細胞から OPCs を作成する際にも応用できる基盤的技術であり、将来的には MS 患者から iPS 細胞を樹立することを視野に入れている。

【謝 辞】

今回、このような機会を与えていただきましたことをこの場を借りて厚く御礼申し上げます。