

第13回日本再生医療学会総会

脳傷害後の新生ニューロンの移動に 活性化アストロサイトとの相互作用が重要

側脳室周囲の脳室下帯で生み出された新生ニューロンは、正常脳では吻側移動経路を通じて嗅球に移動し、脳に傷害が起きた場合は傷害部に移動する。しかし、傷害により活性化されたアストロサイトが存在する部位で移動が停止する。名古屋市立大学大学院再生学分野講師の金子奈穂子氏はこのメカニズムを解析し、活性化アストロサイトとの相互作用を増強する操作を行うことによって新生ニューロンの傷害部への供給が促進されることを、第13回日本再生医療学会総会(3月4~6日、会長=京都大学再生医科学研究所生体材料学分野教授・田畑泰彦氏)で指摘した。

新生ニューロンの移動経路に着目

正常脳では、鎖状の細長い細胞塊を形成した新生ニューロンは脳室下帯と脳の前部にある嗅球を結ぶ細長い経路(吻側移動経路)を移動する。この経路で、新生ニューロンはアストロサイトによって構成されたトンネルの内部を移動している。

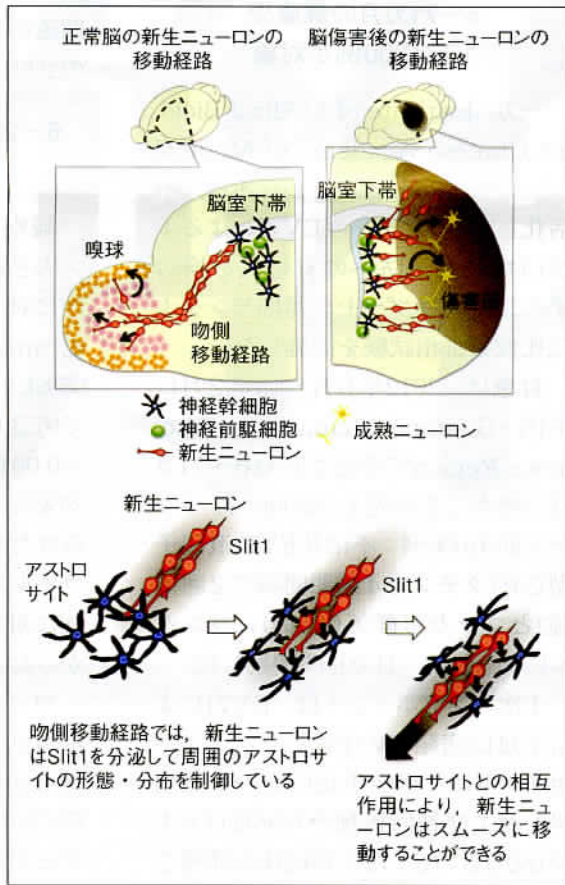
金子氏らの正常脳の脳形成過程の検討では、トンネルを形成するアストロサイトが、吻側移動経路では新生ニューロンから分泌される蛋白質Slit1の受容体を発現しており、両者の相互作用がスムーズな新生ニューロンの移動に必要であるという知見が得られている(図)。一方、脳梗塞モデルマウスを用いて梗塞巣に移動する新生ニューロンを観察したところ、活性化アストロサイトが存在する部位への移動を避ける、つまりトンネル内部を通過できないという知見が得られた。

そこで、傷害部への新生

ニューロン供給促進(移動)に、活性化アストロサイトとの相互作用が関与しているかどうか、脳梗塞モデルマウスを用いて検討した。傷害12日後に移植した特定の蛋白質の発現を抑制した新生ニューロンと、正常な新生ニューロンについて傷害部への移動を解析したところ、この蛋白質を欠損する新生ニューロンは移植部位近傍にとどまり、傷害部への移動が有意に抑制された。

また、脳梗塞モデルマウスの脳の免疫染色を行ったところ、活性化した線条体のアストロサイトが、この蛋白質の受容体を発現していたことから、この蛋白質が活性化アストロサイトとの相互作用を仲介している可能性が示唆された。そこで、この相互作用を増強する操作を行ったところ、活性化アストロサイトが存在する傷害部近くへの新生ニューロンの移動を促進することができたという。

(図) 新生ニューロンの移動経路とアストロサイトとの相互作用



(金子奈穂子氏提供)

神経幹細胞を誘導しやすい iPS細胞樹立に成功

慶應義塾大学生理学教室専任講師の赤松和土氏は、人工多能性幹細胞(iPS)細胞の培養環境を変え、成熟した神経幹細胞に効率良く短期間で分化するiPS細胞樹立に成功したことを報告した。

神経細胞移植の大前提は 分化・増殖のスピードアップ

患者由来iPS細胞から神経幹細胞を誘導し、損傷した脊髄に移植する場合、治療の効果を引き出せる期間は受傷して4週間、長く見積もって

も6週間以内に限定されると予測されている。にもかかわらず、iPS細胞を経由した神経幹細胞の誘導には3~6カ月を要する上、iPS細胞のクローンごとに分化の度合いや性質が異なるという問題がある。

そこで、赤松氏らはまず2012年、iPS細胞からの誘導に先立ち、神経系細胞を効率良く増殖させる手法を開発した。それによると、マウスおよびヒトの線維芽細胞に山中4因子(*Oct4*, *Sox2*, *Klf4*, *c-Myc*)を導入、iPS細胞を樹立する途中で培養

条件を切り替え、結果的にマウス・ヒトとも、約2週間で神経幹細胞の分化にこぎ着けたという。

こうしてつくられた神経幹細胞は、神経系細胞に特異的な遺伝子を線維芽細胞に強制発現させ、短期間で分化状態を変更するダイレクト・リプログラミング(直接誘導)と、胚性幹(ES)細胞ないしiPS細胞から誘導した神経幹細胞の“中間型”に当たることから、directly induced neural stem cell(diNSC)と呼ばれている。

ES/iPS細胞から誘導した神経幹細胞がまずニューロンをつくり、継代を繰り返した後にグリア細胞を生み出していく。

それに対し、diNSCは一足飛びにニューロンのマーカーであるβ-tubulin IIIに加えてglial fibrillary acidic protein(GFAP、アストロサイトのマーカー)や2',3'-cyclic nucleotide phosphodiesterase(CNPase、オリゴデンドロサイトのマーカー)陽性細胞を多く産生する成熟型の神経幹細胞へと分化を遂げる。こうした成熟と分化の速さは、

混入した多能性細胞の排除にも有利に働くという。

さらに2013年、iPS細胞作製時の培養液に添加する化合物の組み合わせを調整し、神経幹細胞を効率良く短期間で分化できるiPS細胞の樹立にも成功。このiPS細胞から誘導した神経幹細胞は、最初からニューロンとグリア細胞の両方を産生するなど、成熟の度合いはdiNSCやin vivoの神経幹細胞に極めて近いという。

同氏は「神経幹細胞を再生医療のソースとして用いるためには、どこかの段階で細胞を大量に増殖させなければならない。ただ、ゲノムの安定性からすれば、iPS細胞よりも神経幹細胞の段階の方がやはり適しているのではないかと。問題は安全性だが、今回作製した分化速度が速いiPS細胞から分化させた神経幹細胞もdiNSCと同様、未分化な細胞を淘汰させやすいためこれをクリアできると考えている。細胞の作製に末梢血が使えるのもiPS細胞の利点といえるだろう」と結んだ。

~徐放化bFGFを用いた再生促進顔面神経減荷術~ 発症2週以降の回復不良例に有用

側頭骨内の骨管が主病変部位の顔面神経麻痺は、保存治療でも約2割で後遺症が残存し、骨管による神経圧迫を除去して増悪予防を目的とする顔面神経減荷術を行っても発症2週以降は回復不良なケースが多い。愛媛大学大学院耳鼻咽喉科・頭頸部外科准教授の羽藤直人氏は、高度顔面神経麻痺例に徐放化栄養因子(bFGF)を用いた再生促進顔面神経減荷術が低侵襲で高治癒が期待できる治療手技であると報告した。

高度のBell麻痺長期経過例で有効

羽藤氏らの実験によると、生体吸収性ゼラチンハイドロゲルを添加したことでイオン結合したbFGFは、ゼラチン分解に伴い徐々に放出され効果が持続すること、モルモット顔面神経麻痺モデルを用いた検討では神経挫滅処理のみに比べて、ゼラチンハイドロゲルを添加したbFGF徐放投与を併用した方が回復度が高いことが明らかになったという。

そこで、高度の顔面神経麻痺39例(Bell麻痺26例、Hunt症候群10例、顔面神経麻痺3例、年齢17~78歳、男性19例、発症から手術までの期間14~104日)を対象に、顔面神経減荷術を施行した上で、露出した顔面神経周囲にbFGFを含浸させたゼラチンハイドロゲルを留置させた再生促進顔面神経減荷術を行い、Bell麻痺は過去

の成績(保存的治療43例、手術のみ58例)と比較した。

その結果、House&Blackmann分類でGrade 1(正常)回復は再生促進顔面神経減荷術群では7割強と従来治療群(保存的治療は約2割、手術のみ約4割)に比べて有意に良好で、Grade 2への回復を含めても有意に良好であることが認められた。

発症2週以降の手術時期別に治療成績を見ると、15~30日におけるGrade 1の割合は再生促進顔面神経減荷術群では8割以上、31~60日、61~120日では約6割と、治療が遅ればそれだけ長期経過が良好でない従来治療群に比べ、再生促進顔面神経減荷術の有用性が示された。

同氏は「再生促進顔面神経減荷術の減荷範囲は水平部より末梢と限局でき、従来手術のように広範ではない。キヌタ骨は温存でき神経鞘の切開もなく、保存的治療のステロイドではなく、徐放化栄養因子を用いることから低侵襲で高治癒を期待できる(表)」と述べた。

(表) 従来の顔面神経減荷術と再生促進顔面神経減荷術との比較

	顔面神経減荷術	再生促進顔面神経減荷術
目的	増悪予防	再生促進
時期	可能な限り早期	発症2週以降
減荷範囲	可能な限り広範囲	水平部より末梢
キヌタ骨	必要ならいったん摘出	温存
神経鞘	切開する	切開しない
投与薬剤	ステロイド薬	徐放化栄養因子

↓
低侵襲で高治癒率の再生促進減荷術は新しい治療法として有望
(羽藤直人氏提供)