

【目的】 これまでに我々は脊髄損傷に対する幹細胞移植の治癒機転メカニズムの一部を明らかにしてきた。しかし、過去の研究で用いられてきた胎児由来組織の神経幹細胞を再生医療へ応用するためには、倫理的問題が解決されない限り困難であると考えられる。iPS 細胞や ES 細胞を代表とする多能性幹細胞も脊髄損傷に対する細胞移植療法の細胞源として候補に挙げられるが、移植後に腫瘍形成の危険性を孕んでおり、安全性が担保されているわけではない。腫瘍化しない安全な多能性幹細胞由来の神経幹細胞導入方法も未だ確立されていない。我々はヒト体細胞から神経幹細胞への直接誘導法 (Direct reprogramming) を開発した。この手法は、ヒト血液中の造血幹細胞に特定の初期化遺伝子を導入することで、2 週間という短い培養期間かつ 40% という非常に高い効率で神経幹細胞 (drNPCs : directly reprogrammed neural precursor cells) を作製することができる。この手法を用いれば、iPS 細胞に比べて、効率よく短い期間で神経幹細胞を作製することが可能で、かつ胎児組織由来の神経幹細胞が有する倫理的問題も解決することができる。本研究の目的は、脊髄損傷に対するヒト体細胞由来神経幹細胞移植の効果を明らかにすることである。

【方法】 メス成体の免疫不全ラットを使用し、脊髄損傷モデルラットを作製した。脊髄損傷 2 週後に drNPC を損傷部周囲 (頭側に 2 箇所、尾側に 2 箇所) に移植した。免疫組織学的解析・遺伝子発現解析で神経幹細胞の性質や細胞移植の効果について調査した。運動機能評価で損傷後ラットの運動機能の推移を調査した。

【結果】 1. 神経幹細胞が *in vitro* で 3 系統に分化することを確認した。2. 神経幹細胞が *in vivo* で 3 系統に分化することを確認した。3. 移植した神経幹細胞が生着し、脊髄損傷後の髄鞘再生に寄与していることを明らかにした。4. 異なる培養条件の神経幹細胞移植を比較し、候補を 3 つに絞り込んだ。5. 神経幹細胞移植が、脊髄損傷後の残存髄鞘を増加させることを明らかにした。6. 神経幹細胞移植が、頸髄損傷後の機能回復を促進させることを明らかにした。今回、我々はヒト体細胞由来神経幹細胞移植が脊髄損傷後の組織修復や機能回復を促進することを明らかにした。移植された drNPC は移植後 3 ヶ月経過した時点でも損傷脊髄内に生着しており、免疫拒絶を受けることなく生着し得ることが確認できた。また生着した移植細胞による腫瘍形成も認められなかった。神経幹細胞はヒト体細胞から直接誘導されて形成された細胞で、神経系の細胞へ分化誘導し易く、臨床応用を考慮する上で有用だと考えられる。生着した細胞は、オリゴデンドロサイトやニューロンに分化することで、脊髄損傷後の髄鞘形成を高める働きをしていた。また、移植細胞が神経系の細胞に分化し、組織的な再生に寄与しただけではなく、移植した細胞が発現する液性因子が損傷脊髄に対して保護的に機能した可能性も考えられた。

ヒト体細胞由来神経幹細胞移植が脊髄損傷部の髄鞘修復を促進する。

