Title	尿由来細胞を用いた直接誘導神経の作出と解析
Sub Title	The establishment and analysis of directly induced neurons from urine-derived cells
Author	前田, 純宏(Maeda, Sumihiro)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2023
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2022.)
JaLC DOI	
Abstract	ヒト細胞を用いた神経の研究には、主にヒトInduced pluripotent stem cell (iPSC)由来神経が用いられてきたが、iPSC化する時点において年齢依存的なDNAメチル化などのエピゲノム変化は消去されてしまう為に、年齢依存的に発症する疾患の研究に用いるには限界があった。そこで本研究では、体細胞から直接神経細胞を誘導する事によって、ドナーの年齢を反映した神経細胞を作出する。体細胞の中でも、複数回同一個人から採取可能な尿検体に含まれる尿由来細胞（Urine-derived cells: UDCs）から直接神経細胞（UDC-induced neurons: UDC-iNs）へと誘導する。特に本年度は、神経疾患患者由来のUDCを採取する事を計画した。 神経疾患患者の中でも、アルツハイマー病と共通の病理像を持つ遺伝性神経変性疾患であるNiemann-Pick Type C（NPC）患者の家族会を通じて合計６家族に連絡を取り、５家族に対して同意説明を行い、尿検体採取にご協力頂いた。頂いた尿検体から尿由来細胞の採取を試みた所、5症例中、4症例からのUDCの採取に成功した。5症例中１症例に関しては、尿検体自体に尿路感染の影響が出ており、採取を断念せざるを得なかった。また、得られたUDCから、健常者由来UDCに対して開発した直接神経細胞の誘導法を応用し、これらの遺伝性神経疾患患者由来細胞に対しても本手法が応用可能である事の確認に成功した。NPC患者由来のUDC、およびUDC-iNを用いて網羅的な転写産物解析を行い、神経細胞様の発現プロファイルを持っている事を確認した。さらに、UDCが得られた患者のコントロールとなりうる、年代、性別が合致する症例に協力を依頼し、３家族に同意説明を行い、UDCの採取に成功した。今後は、既に他の神経変性疾患において健常者との違いが明らかにされているCa2+ oscillationなどを用いて細胞生理学的な変化を検証していく。 Human induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived neurons have been mainly used to study neurological diseases using human cells, but epigenetic changes such as age-dependent DNA methylation are erased during the conversion process from the somatic cells to iPSCs. This has limited its use in the study of age-dependent neurological diseases. Therefore, in this study, we will create neurons that reflect the donor's age and model age-dependent neurological diseases by directly inducing neurons from somatic cells. Among somatic cells, we focus on urine-derived cells (UDCs), which can be collected from urine specimens that can be collected from the exact individual multiple times. This year, we planned to collect UDCs derived from patients with a neurological disease, Niemann-Pick Type C (NPC) disease and directly induce neurons (UDC-iNs) from the UDCs. We contacted 6 families through family associations of patients with NPC, gave consent explanations to 5 families, and obtained urine specimens from the 5 patients. We succeeded in collecting UDC from 4 out of 5 cases. In one of the five cases, a urinary tract infection forced us to give up the UDC collection from the donor. In addition, we applied the direct neuronal induction method developed for UDCs from healthy subjects to the obtained UDC from the NPC patients and confirmed that this method can be applied to cells derived from patients with these hereditary neurological diseases. Comprehensive transcript analysis of UDC and UDC-iN derived from NPC patients confirmed the neuron-like expression profile of the UDC-iNs. In addition, we asked for the cooperation of healthy cases that matched the age and gender of the patients and gave consent to 3 families, and succeeded in collecting UDC from them. In the future, we will apply Ca2+ oscillation observation to the UDC-iNs from the control and patients and reveal the difference among them.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2022000011-20220057

2022 年度　学事振興資金（共同研究）研究成果実績報告書

2023 年 3 月 28 日

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	専任講師(有期･医学部)	補助額	1,100 千円
	氏名	前田 純宏	氏名 （英語）	Sumihiro Maeda		

研究課題（日本語）
尿由来細胞を用いた直接誘導神経の作出と解析

研究課題（英訳）
The Establishment and analysis of directly induced neurons from urine-derived cells

研究組織	
氏　　名 Name	所属・学科・職名 Affiliation, department, and position
新井康通（Yasumichi Arai）	看護医療学部　教授
武内俊樹（Toshiki Takenouchi）	医学部　小児科　講師

１．研究成果実績の概要

ヒト細胞を用いた神経の研究には、主にヒト Induced pluripotent stem cell (iPSC)由来神経が用いられてきたが、iPSC 化する時点において年齢依存的な DNA メチル化などのエピゲノム変化は消去されてしまう為に、年齢依存的に発症する疾患の研究に用いるには限界があった。そこで本研究では、体細胞から直接神経細胞を誘導する事によって、ドナーの年齢を反映した神経細胞を作出する。体細胞の中でも、複数回同一個人から採取可能な尿検体に含まれる尿由来細胞（Urine-derived cells: UDCs）から直接神経細胞（UDC-induced neurons: UDC-iNs）へと誘導する。特に本年度は、神経疾患患者由来の UDC を採取する事を計画した。

神経疾患患者の中でも、アルツハイマー病と共通の病理像を持つ遺伝性神経変性疾患である Niemann-Pick Type C（NPC）患者の家族会を通じて合計６家族に連絡を取り、５家族に対して同意説明を行い、尿検体採取にご協力頂いた。頂いた尿検体から尿由来細胞の採取を試みた所、5 症例中、4 症例からの UDC の採取に成功した。5 症例中１症例に関しては、尿検体自体に尿路感染の影響が出ており、採取を断念せざるを得なかった。また、得られた UDC から、健常者由来 UDC に対して開発した直接神経細胞の誘導法を応用し、これらの遺伝性神経疾患患者由来細胞に対しても本手法が応用可能である事の確認に成功した。NPC 患者由来の UDC、および UDC-iN を用いて網羅的な転写産物解析を行い、神経細胞様の発現プロファイルを持っている事を確認した。さらに、UDC が得られた患者のコントロールとなりうる、年代、性別が合致する症例に協力を依頼し、３家族に同意説明を行い、UDC の採取に成功した。今後は、既に他の神経変性疾患において健常者との違いが明らかにされている Ca2+ oscillation などを用いて細胞生理学的な変化を検証していく。

２．研究成果実績の概要（英訳）

Human induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived neurons have been mainly used to study neurological diseases using human cells, but epigenetic changes such as age-dependent DNA methylation are erased during the conversion process from the somatic cells to iPSCs. This has limited its use in the study of age-dependent neurological diseases. Therefore, in this study, we will create neurons that reflect the donor's age and model age-dependent neurological diseases by directly inducing neurons from somatic cells. Among somatic cells, we focus on urine-derived cells (UDCs), which can be collected from urine specimens that can be collected from the exact individual multiple times. This year, we planned to collect UDCs derived from patients with a neurological disease, Niemann-Pick Type C (NPC) disease and directly induce neurons (UDC-iNs) from the UDCs.

We contacted 6 families through family associations of patients with NPC, gave consent explanations to 5 families, and obtained urine specimens from the 5 patients. We succeeded in collecting UDC from 4 out of 5 cases. In one of the five cases, a urinary tract infection forced us to give up the UDC collection from the donor. In addition, we applied the direct neuronal induction method developed for UDCs from healthy subjects to the obtained UDC from the NPC patients and confirmed that this method can be applied to cells derived from patients with these hereditary neurological diseases. Comprehensive transcript analysis of UDC and UDC-iN derived from NPC patients confirmed the neuron-like expression profile of the UDC-iNs. In addition, we asked for the cooperation of healthy cases that matched the age and gender of the patients and gave consent to 3 families, and succeeded in collecting UDC from them. In the future, we will apply Ca2+ oscillation observation to the UDC-iNs from the control and patients and reveal the difference among them.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名（著者・講演者）	発表課題名（著書名・演題）	発表学術誌名（著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月（著書発行年月・講演年月）
前田純宏	尿検体を用いた個別化老化神経細胞の作出	第 41 回日本認知症学会学術集会/第 37 回日本老年精神医学会	2022 年 11 月 25 日
前田純宏	Aged Human Neurons Directly Converted from Urine-Derived Cells	The 17th International Symposium on Geriatrics and Gerontology	2022 年 12 月 3 日