

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	木 村 洋 朗
主 論 文 題 名				
Stem cells purified from human induced pluripotent stem cell-derived neural crest-like cells promote peripheral nerve regeneration (ヒトiPS細胞由来の純化神経堤様細胞は末梢神経再生を促進する)				
(内 容 の 要 旨)				
広範囲末梢神経損傷に対する標準治療は自家神経移植だが、神経採取部の脱落症状など問題があり、近年では同種神経や人工神経の研究開発が進められている。細胞移植を追加することで神経再生や機能回復が促進される報告もあり、末梢神経障害に対する様々な新規移植治療が試みられている。先行研究においてヒト由来人工多能性幹細胞(induced pluripotent stem cells : iPSCs) から神経堤へ誘導した細胞を2つの細胞表面マーカー(LNGFR・THY-1 : LT) で純化し、神経堤と間葉系の両方の性質を持つ有望な幹細胞を得ることに成功している。 本研究ではヒトiPSCsを神経堤様細胞(neural crest like cells : NCLCs)へ誘導し、得られた細胞からフローサイトメーターを用いてLT陽性細胞を純化した(以下LT-NCLCs)。LT-NCLCsの性質をフローサイトメーターにて解析したところ、神経堤および間葉系の幹細胞マーカーを複数発現していた。LT-NCLCsを神経堤用の培地で培養すると、ニューロンやシュワン細胞へ分化した。 次に免疫抑制マウスの片側坐骨神経を広範囲に欠損させ、蛍光と発光の融合蛋白質で標識したLT-NCLCsをシリコンチューブに充填し移植した細胞移植群と、チューブのみの細胞非移植群、自家神経移植群、神経を切断せず神剥離のみを行ったsham群の4群間の比較を行った。細胞移植群においては、ルシフェラーゼによる発光にて移植細胞の生存・増殖を経時的に追跡し、術後12週までヒト細胞が生存し続けた。2週毎の運動機能評価で、細胞移植群は非移植群に比して有意な機能回復を示し、自家神経移植群と回復に差を認めなかった。組織学的には光学顕微鏡レベルでも電子顕微鏡レベルでも、細胞移植群において有意に太い再生神経の線維束を認め、非移植群に比較して神経線維束の横断面積は有意に増大し、肥厚した髄鞘が有意差をもって検出された。蛍光免疫染色および抗体染色した組織の電子顕微鏡解析により、再髄鞘化された再生軸索の周囲にヒト細胞質特異的抗体にて染色された移植ヒト細胞が多数確認され、移植細胞による軸索再生や髄鞘化の促進が示された。また血管新生の促進が細胞移植群にて観察され、ヒトおよびマウスの血管内皮細胞を見分けられる抗体を用いた血管の染色により、細胞移植群における移植部に増生した新生血管はヒト由来ではなくマウス由来であることが解明された。 今回の解析により、マウス広範囲坐骨神経欠損モデルに対しヒトiPSCs由来のLT-NCLCsを移植することで神経再生と再髄鞘化が同時に促進され、血管新生が増加することで、運動機能の回復が有意に促されることが明らかとなった。無限に増幅が可能なヒトiPSCs由来の細胞を、特定の2つの細胞表面マーカーだけで神経堤および間葉系の両方の性質を持つ治療効果の高い細胞を純化して移植したことで末梢神経再生に極めて有効な新しい細胞移植法を確立することができた。				