

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Administration of Human-Derived Mesenchymal Stem Cells Activates Locally Stimulated Endogenous Neural Progenitors and Reduces Neurological Dysfunction in Mice after Ischemic Stroke

(ヒト由来間葉系幹細胞投与は、脳梗塞マウスの傷害局所に誘導される内在性神経幹細胞を活性化し、神経機能障害を軽減する)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻 生体再生制御系

神経再生医学 (指導教授 中込 隆之)

氏名 藤原 周一

【背景】

我々は、マウス脳梗塞モデルを用いた研究により、神経細胞に分化可能な内在性神経幹細胞 [傷害/虚血誘導性神経幹細胞 (injury/ischemia-induced neural stem/ progenitor cell; iNSPC)] が、脳梗塞後の虚血領域に誘導されることを世界に先駆けて報告してきた。このことは、傷害脳では iNSPC を介した自己修復・再生機構が働いていることを示唆している。一方、近年、再生医療の分野では間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell; MSC) を用いた細胞治療が注目されているが、MSC 移植が iNSPC に対して、どのような影響をもたらすのかは明らかにされていない。そこで、本研究では、ヒト骨髄由来 MSC を用い、(1) 脳梗塞マウスに MSC を細胞移植、(2) 脳梗塞マウスの虚血領域より単離した iNSPC と MSC の共培養、を施行し、MSC が iNSPC を介した神経再生に及ぼす影響を検討した。

【方法】

脳梗塞マウスに MSC 移植を行い、細胞移植効果を行動テストにより検証した。また、mCherry で標識した MSC を脳梗塞作製後の nestin-GFP 遺伝子変異マウスに細胞移植し、iNSPC の生体内動態を検討した。次に、iNSPC と MSC を細胞が接触可能な条件下で共培養後、免疫組織化学染色を行い、iNSPC の増殖能を比較検討した。また、iNSPC 由来 Neurosphere を MSC と共に培養後、免疫組織化学染色を行い、iNSPC に対する分化能を比較検討した。さらに、共培養後の iNSPC の細胞特性変化に関して、マイクロアレイを用いた遺伝子解析にて検討した。

【結果】

行動テストの結果、MSC 移植群では PBS 投与コントロール群に比べ、抑うつ行動や記憶障害の改善を認めた。nestin-GFP 遺伝子変異マウスを用いた検討では、細胞移植した MSC の周囲に iNSPC と考えられる nestin を発現する内在性神経幹細胞の活性化所見を認めた。共培養実験の結果、MSC の存在は、iNSPC の細胞増殖を有意に促進させた。神経分化に関しても、MSC の存在は、iNSPC 由来 Neurosphere の分化を促進させ、有意に神経突起を増加させた。また、神経系の中では、アストロサイトへの分化を有意に促進させた。マイクロアレイ解析の結果、MSC の存在は、細胞増殖、神経分化、シナプスなどに関連する一部の遺伝子に対して、その発現を有意に制御することが確認された。

【結論】

脳梗塞モデルマウスを用いた検討により、MSC 移植は、脳梗塞後の神経機能を改善することを明らかにした。また、本研究により、そのメカニズムの一端として、MSC 移植による iNSPC を介した神経再生促進効果が示唆された。内因性 iNSPC に対する MSC の正確な役割は依然として不明であるが、MSC と iNSPC の相互関係を明らかにすることは、虚血性脳卒中をはじめとし、様々な中枢神経疾患における MSC 移植後の iNSPC を基盤とした神経再生を目指すうえで新たな治療戦略の開発に繋がり得ると考えられた。