

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462172

研究課題名(和文) ヒトiPS細胞由来神経細胞による皮質運動野の再構築と移植応用

研究課題名(英文) Transplantation of human iPS cell derived neural cells on hemiplegic mice with experimental brain injury

研究代表者

脇坂 季繁 (Wakisaka, Sueshige)

聖マリアンナ医科大学・医学部・講師

研究者番号：80308527

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：私たちの研究室では片麻痺モデルマウスに対してヒトiPS細胞から分化させた神経細胞の移植研究を行ってきた。Reelinは個体の発生過程において神経細胞の移動と運動皮質の層構造形成の制御を行う蛋白質として同定された。我々の実験系では脳内の炎症細胞と移植細胞はともにReelinを産生した。移植細胞はReelinの受容体を発現して移植細胞はReelinを受け取り損傷部皮質まで遊走しそこで神経ネットワークを再構築した。損傷部皮質まで移動した神経幹/前駆細胞は移動の過程で皮質運動神経への分化を伴った。片麻痺モデル動物への神経細胞移植ではReelinが組織学的な修復と機能回復に重要に関わる事が示された。

研究成果の概要(英文)：We have been conducting transplantation experiments on neural cells differentiated from human iPS cells to hemiplegic model mice. Reelin was identified as a protein that controls neuronal cell migration and layered structure formation of the motor cortex during development of humans. In our experimental system, inflammatory cells and transplanted cells in the brain both produced Reelin. The transplanted neural cells expressed receptors of Reelin. After binding of Reelin to its receptors they migrated to the injured cortex where the neural network was then reconstructed. The grafted neural stem / progenitor cells that migrated to the injured cortex were accompanied by their differentiation into the cortical motor neurons during the migration. In the neural cell transplantation to hemiplegic model animal, Reelin was shown to be important for histological repair and function recovery.

研究分野：再生医学

キーワード：再生医学 神経細胞移植 Reelin

1. 研究開始当初の背景

本邦の脳血管障害患者数は150万人といわれ、25万人以上/年が新規発症している。「寝たきり」の約3割が脳卒中などの脳血管疾患である。加えて医療経済的にも全医療費のほぼ1割が脳血管疾患に使われている。脳血管疾患患者は2020年には300万人を超すと予測されている。

2. 研究の目的

これまでに私たちの研究室では片麻痺モデルマウスに対してヒトiPS細胞から分化させた神経細胞の移植研究を行ってきた。実際に神経細胞移植が片麻痺モデルマウスの運動機能を著明に改善させることが出来た。しかし、その組織学的再生と運動機能の回復過程の詳細は明らかではない。ここではヒトiPS細胞由来神経幹/前駆細胞移植の過程で認められる分子メカニズムを解析することを目的とした。

3. 研究の方法

凍結損傷により片麻痺マウスを作成して、そこにヒトiPS細胞由来神経幹/前駆細胞を移植した。

マウスの運動機能はロタロッド試験とビームウォーキング試験を併用して評価した。

移植後7日、14日、28日、35日後にマウスをサクリファイして運動皮質の組織標本作製した。

免疫組織化学染色は既報のごとく行った。

4. 研究成果

これまでに私たちの研究室では片麻痺モデルマウスに対してヒトiPS細胞から分化させた神経細胞の移植研究を行ってきた。実際に神経細胞移植が片麻痺モデルマウスの運動機能を著明に改善させることが出来る。運動機能の修復過程ではケモカインSDF1がヒト神経細胞の受容体CXCR4に作用して神経細胞の遊走と成熟をもたらす事は既に報告した。

一方、Reelinは個体の発生過程において神経細胞の移動と運動皮質の層構造形成の制

御を行う蛋白質として同定された。その後の研究から現在では多彩な神経機能発現に関与することが知られている。統合失調症、自閉症をはじめとした種々の中枢神経系疾患でReelinが異常を示す事が報告されている。片麻痺モデルマウスにヒトiPS細胞由来の神経細胞移植を行う実験系では、脳内の炎症細胞と移植細胞はともにReelinを産生した。移植細胞はReelinの受容体であるApoE受容体とVLDL受容体を発現してReelinを受け取ることで細胞内刺激伝達系でその下流に位置するDisabled1のリン酸化を引き起こした。リン酸化Reelinは接着因子であるインテグリンとNカドヘリンの発現を誘導し神経細胞の遊走をもたらした。結果として移植細胞はReelinを受け取り損傷部皮質まで遊走しそこで神経ネットワークを再構築した。損傷部皮質まで移動した神経幹/前駆細胞は移動の過程でFetzf2やCTIP2などの大脳皮質運動神経マーカーを発現した皮質運動神経への分化を伴った。我々の成績は、片麻痺モデル動物への神経幹/前駆細胞移植ではReelinがその組織学的な修復と機能回復に関与することが示している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

1. Suzuki N, Arimitsu N, Shimizu J, Takai K, Hirotsu C, Takada E, Ueda Y, Wakisaka S, Fujiwara N, Suzuki T. Neuronal cell sheet of cortical motor neuron phenotype derived from human iPS cells. Cell Transplant. 2017; 26:1355-1364. doi: 10.1177/0963689717720280.. 査読有
2. Arimitsu N, Shimizu J, Iinuma M, Umehara T, Fujiwara N, Takai K, Wakisaka S, Hirotsu C, Suzuki T, Beppu M, Niki H, Suzuki N. Human

iPS cell derived neural cell sheets exhibit mature neural and extendable scaffold functions and promote recovery in injured mouse spinal cords. J Stem Cell Res Med. 2016; 1:41-47. doi: 10.15761/JSCRM.1000106 査読有

3. Shimizu J, Kubota T, Takada E, Takai K, Fujiwara N, Arimitsu N, Ueda Y, Wakisaka S, Suzuki T, Suzuki N. Bifidobacteria Abundance-Featured Gut Microbiota Compositional Change in Patients with Behcet's Disease. PLoS One.2016; 11: e0153746. 査読有
4. Shimizu J, Takai K, Takada E, Fujiwara N, Arimitsu N, Ueda Y, Wakisaka S, Suzuki T, Suzuki N. Possible association of proinflammatory cytokines including IL1 and TNF with enhanced Th17 cell differentiation in patients with Behcet ' s disease. Clin Rheumatol. 2016; 35:1857-1863. 査読有
5. Shiratsuch T, Misawa H, Saito A, Shimizu J, Iinuma M, Fujiwara N, Takai K, Arimitsu N, Ueda Y, Wakisaka S, Suzuki T, Beppu M, Suzuki N. Sonic Hedgehog Supplementation Rapidly induces Myogenesis in Human Induced Pluripotent Stem Cells. St. Marianna Med. J. 2015; 6: 225-233. 査読有
6. Fujiwara N, Shimizu J, Takai K,

Arimitsu N, Ueda Y, Wakisaka S, Suzuki T, Suzuki N. Cellular and molecular mechanisms of the restoration of human APP transgenic mouse cognitive dysfunction after transplant of human iPS cell-derived neural cells. Exp Neurol. 2015; 271: 423-431. 査読有

7. Iinuma M, Umehara T, Arimitsu N, Shimizu J, Misawa H, Takai K, Fujiwara N, Fujii A, Ueda Y, Wakisaka S, Suzuki T, Hirotsu C, Beppu M, Suzuki N. Induction of neural cells with spinal motoneuron phenotype from human iPS cells and the transplantation to totally transected spinal cords in mice. Inflamm Regen. 2015; 35: 154-163. 査読有

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

脇坂季繁 (Wakisaka, Sueshige)

聖マリアンナ医科大学・医学部・講師

研究者番号：80308527