

平成22年度研究実施報告書

1. 研究実施の概要

1) ヒト神経幹細胞の分化能と腫瘍形成能の評価

ヒト iPS 細胞から神経幹細胞 (NSPC: Neural Stem/Precursor Cells) を誘導する方法を確立し、複数株のヒト iPS 細胞株 (201B6, 201B7: c-Myc(+), 253G1, 253G4: c-Myc(-)) を用いて、神経分化誘導効率や分化誘導後の NSPC の *in vitro* における分化能について、ヒト ES 細胞由来 NSPC と比較解析を行った。また、誘導した NSPC を NOD/SCID マウス脳および精巣に移植し *in vivo* における分化能と造腫瘍性について解析した。今後は、*in vivo* における造腫瘍性についてさらに詳細な解析を行うと同時に、腫瘍化に関与する要因について、ウイルス由来の外来遺伝子 (c-Myc あるいは、他の外来遺伝子) の影響、遺伝子発現、ゲノムの異常などに着目した解析を行う予定である。

2) 損傷脊髄に対するヒト神経幹細胞移植の有効性と安全性の評価

1) の結果を踏まえて、ヒト iPS 細胞 (201B7: c-Myc(+), 253G1: c-Myc(-)) 由来 NSPC (3 回継代したもののみ) を NOD/SCID (Non-obese diabetic / Severe combined immunodeficiency) マウス損傷脊髄に対する亜急性期移植を行い、腫瘍形成の有無と有効性を検討した。いずれも損傷脊髄に良好に生着し、neuron, astrocyte, oligodendrocyte へと分化していた。対照群と比較し、移植群ではいずれも 5-HT 及び GAP-43 陽性線維が損傷部尾側で有意に増加していた。

下肢運動機能評価で移植後 8 週までは両移植群とも対照群と比較して有意な改善が得られたが、その後、253G1 移植群において、下肢運動機能が再悪化するものがみられ、組織学的評価で腫瘍形成を認めた。今後、腫瘍形成の原因を解明するために動物数を増やし、腫瘍組織内の transgene の再活性の有無を検討予定である。

3) サル損傷脊髄内微小環境の検討

マーモセット頸髄圧挫損傷モデルを用いて、これまで齧歯類で言われてきた損傷後の幹細胞移植の至適時期が霊長類においても同様のことが言えるのか否かを明らかにする。既に確立したマーモセット頸髄圧挫損傷モデルを作製し、損傷後 14, 28 日 (各 n=3 匹) に髄液を採取し ELISA により髄液中の種々の炎症性サイトカインの定量を行う予定である。さらに、損傷脊髄を取り出しマイクロアレイを施行した。現在、データを解析しており、結果により損傷後 1 週もしくは 6 週でのサンプル採取を計画している。

2. 研究実施体制

日本側

1) 脊髄損傷研究グループ（慶應義塾大学整形外科）

①研究分担グループ長：中村雅也（慶應義塾大学整形外科・講師）

②研究項目：異なるヒト iPS 細胞株から誘導した神経幹細胞を亜急性期の損傷脊髄に移植し、その有効性と安全性を検討する。

2) 神経幹細胞研究（慶應義塾大学生理学）

①研究分担グループ長：岡田洋平（慶應義塾大学生理学・咸臨丸プロジェクト・特別研究講師）

②研究項目：ヒト iPS 細胞から誘導した神経幹細胞の腫瘍形成能に影響を及ぼす因子を明らかにする。

カリフォルニア側

1) 幹細胞研究グループ（University of California, Irvine）

①研究分担グループ長：Aileen J. Anderson (University of California, Irvine, Sue and Bill Gross Stem Cell Center, Associate Professor)

②研究項目：炎症性細胞がヒト神経幹細胞に及ぼす影響を検討する。

2) 脊髄損傷研究（University of California, Irvine）

①研究分担グループ長：Brian J Cummings (University of California, Irvine, Sue and Bill Gross Stem Cell Center, Associate Professor)

②研究項目：急性期と亜急性期に細胞移植を行い、外的な環境因子が移植細胞の分化に与える影響を検討する。