

平成 24 年 10 月 29 日

## 老化マウスから作製した iPS 細胞由来神経堤様細胞移植は 糖尿病性神経障害を改善する

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長・高橋雅英）分子細胞免疫学 磯部健一（いそべ けんいち）教授、糖尿病・内分泌内科学 中村二郎（なかむら じろう）准教授（現 愛知医科大学医学部内科学講座糖尿病内科教授）、大磯ユタカ（おおいそ ゆたか）教授らの研究チームは、老化マウス由来 iPS 細胞から誘導した神経堤様細胞（Neural Crest-Like 細胞; NCL 細胞）移植が糖尿病性多発神経障害(DPN)に有効であることを突き止めました。

本研究成果は、米科学誌『Cell Transplantation』（10月8日付けの電子版、印刷版は現時点では未定）に掲載されました。

# 老化マウスから作製した iPS 細胞由来神経堤様細胞移植は 糖尿病性神経障害を改善する

## ポイント

- iPS 細胞由来神経堤様細胞を糖尿病マウスに移植すると糖尿病性神経障害が改善した。
- 老化マウスから作製した iPS 細胞を利用しても、十分な治療効果を発揮した。
- 本研究結果は、有効な治療法が存在しない進行した糖尿病性神経障害に対する新たな治療戦略となる可能性が示唆された。

## 要旨

糖尿病性多発神経障害 (DPN) の成因として、高血糖に起因した代謝障害および血流障害が重要な役割を果たしている。DPN が進行し、病理学的にも血管や神経の変性が完成した状態では、従来の治療法では不十分であるため、再生医療が期待されている。再生医療の分野において、近年、iPS 細胞が注目されており、iPS 細胞から誘導した神経堤細胞 (neural crest cell) がマウスの脊髄損傷モデルにおける運動機能の改善に有用であることが報告された。

研究チームは、新たな DPN の治療法として、NCL 細胞に注目し、この NCL 細胞を 21 か月齢の老化マウスから作製した iPS 細胞より誘導し、これらの細胞を糖尿病マウスの下肢に移植することにより、治療効果を検討した。その結果、細胞移植により、進行した DPN が改善することを明らかにした。移植した細胞は、神経栄養因子や血管新生因子を供給するパラクリン作用に加え、移植した細胞が移植部位で変性した組織修復に直接関与する細胞置換 (cell replacement) 作用を有する可能性が示唆された。

本研究の結果から、いまだ有効な治療法が存在しない進行した DPN に対し、iPS 細胞を利用した再生医療が応用できる可能性を示しているとともに、高齢者から採取した iPS 細胞でも、糖尿病合併症に対する再生医療への応用に使用可能であることを示唆している。

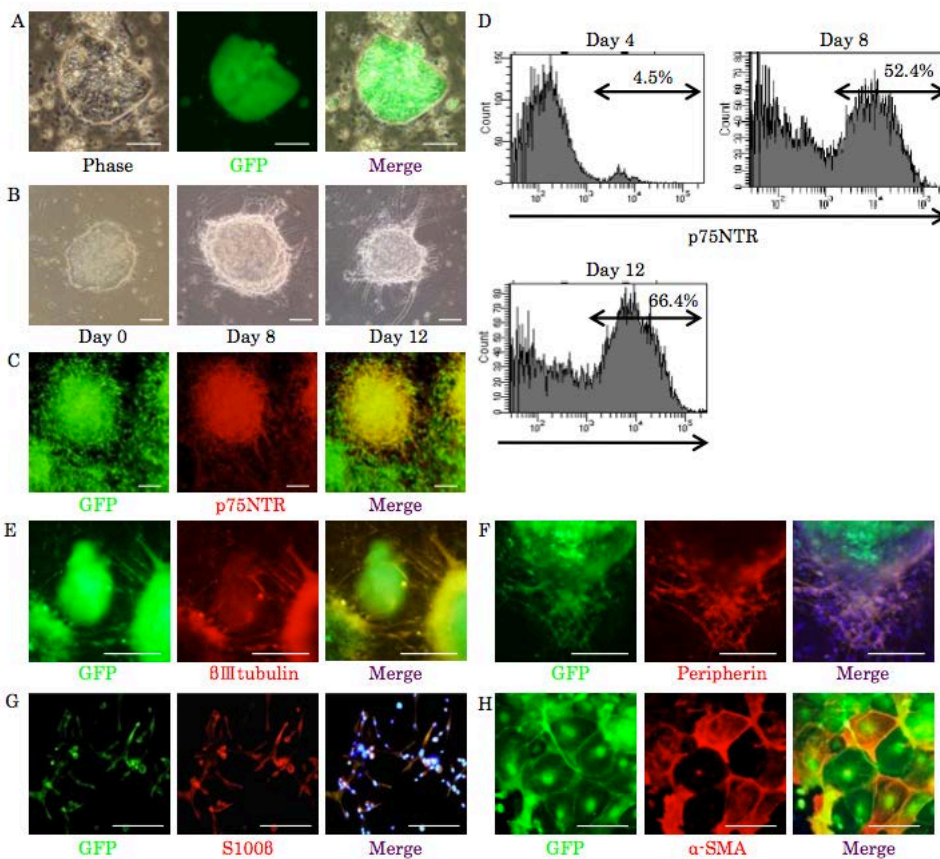
## 1. 背景

糖尿病性多発神経障害 (DPN) の成因として、高血糖に起因した代謝障害および血流障害が重要な役割を果たしている。DPN が進行し、病理学的にも血管や神経の変性が完成した状態では、従来の治療法では不十分であるため、再生医療が期待されている。再生医療の分野において、近年、iPS 細胞が注目されており、iPS 細胞から誘導した神経堤細胞 (neural crest cell) がマウスの脊髄損傷モデルにおける運動機能の改善に有用であることが報告された。そこで今回、研究チームは、新たな DPN の治療法として、neural crest-like (NCL) 細胞に注目し、この NCL 細胞を 21 か月齢の老化マウスから作製した iPS 細胞より誘導し、これらの細胞を糖尿病マウスの下肢に移植することにより治療効果を検討した。

## 2. 研究成果

iPS 細胞から分化誘導し治療に用いた細胞は、各種神経堤細胞マーカーを発現し、神経堤細胞の系譜への分化を認めたことから、この細胞は NCL 細胞と考えられた。この NCL 細胞は

豊富なサイトカイン分泌能を有していることが、PCR 法で確認できた。また、脊髄後根神経節神経細胞の初代培養で、NCL 細胞を維持培養した培地上清を添加することで神経突起が著明に伸長した結果も、NCL 細胞の有するサイトカイン分泌能を示唆するものであった。NCL 細胞移植により、進行した DPN の治療改善効果が認められた。これは、移植細胞が産生するサイトカインのパラクリン効果が大きいと考えられた。すなわち、移植細胞が産生・供給するサイトカインが、血管新生ばかりでなく、神経に対する庇護作用を発揮していると想定され、変性した神経軸索を再生する可能性が示唆された。また、移植した細胞が移植部位で変性した組織修復に直接関与するかどうか、つまり細胞置換 (cell replacement) 作用を有するかどうか DPN に対する再生医療において重要であるが、本研究では、血管系及び神経系細胞への分化を確認しており、これらが神経障害を改善する可能性が期待できる。



### [図] 老化マウス由来 iPS 細胞から神経堤様 (NCL) 細胞の誘導

A: GFP 陽性 iPS 細胞。

B: 位相差顕微鏡写真による PA6細胞上で培養した iPS 細胞。神経様突起が時間とともに伸びるのが見られる。

C: 培養12日目における神経堤細胞のマーカである、ニューロトロフィン受容体(p75NTR) の発現。

D: 細胞解析装置(FACS)による p75NTR 発現の定量的解析。横軸は 100  $\mu\text{m}$  を示す。

E-H: PA6上で神経堤細胞(p75NTR)から更なる培養による分化によって、神経分化マーカである  $\beta$  III tubulin (E;赤)、peripherin (F;赤)と神経様突起の延長 (E,F)、アストロサイトマーカである S-100 $\beta$  (G;赤)、血管平滑筋マーカである  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA)の発現が見られた。横軸は 100  $\mu\text{m}$  を示す。

### **3. 今後の展開**

糖尿病性神経障害に対する iPS 細胞を用いた再生医療の臨床応用に向け、さらなる有効性や安全性の確立に向け、検討を行っている。

#### **【論文名】**

Transplantation of Neural Crest Like Cells Derived from induced Pluripotent Stem Cells Improves Diabetic Polyneuropathy in Mice.

※米国の医学雑誌『Cell Transplantation』電子版 10 月 8 日号に掲載