

周産期低酸素性虚血性脳症に対する Muse 細胞の静脈内投与の治療有効性評価 ～脳性麻痺の赤ちゃんに希望の光を 新しい治療法への挑戦～

名古屋大学医学部附属病院総合周産期母子医療センター新生児部門の鈴木 俊彦病院助教（筆頭著者）、佐藤 義朗講師（責任著者）、早川 昌弘病院教授、同小児科の高橋 義行教授、同先端医療開発部の水野 正明病院教授、清水 忍准教授らの研究グループは、東北大学大学院医学系研究科細胞組織学の出澤 真理教授およびサウスフロリダ大学 Cesar V Borlongan 教授（責任著者）ら、(株)生命科学インスティテュートとの共同研究により、周産期低酸素性虚血性脳症（HIE）に対する Muse 細胞による新規治療法開発の可能性と抗炎症メカニズムを明らかにしました。

HIE は、出生前後に脳への血流が遮断され低酸素に陥ることで引き起こされる脳障害で、脳性麻痺^{※1}の主な原因の一つです。現在有効な治療法は低体温療法^{※2}しかなく、しかも重症例に対しては十分な効果が期待できません。そのため、新しい治療法の開発は喫緊の課題となっています。

Muse 細胞は、末梢血や骨髄、および各臓器の結合組織中に分布している多能性^{※3}をもつ幹細胞^{※4}です。遺伝子の導入や事前に分化誘導^{※5}する必要がなく、静脈内に投与するだけで傷害部位に遊走、集積し、生着^{※6}して組織を構成する細胞に分化することで傷ついた細胞を置き換えて修復するという特長を有しています。本研究では、HIE モデル動物を用いて、静脈内に投与した Muse 細胞が免疫抑制剤を投与することなく損傷した脳に生着し神経細胞へ分化すること、行動実験による評価において脳機能障害の改善効果を認めることを確認しました。また、Muse 細胞が脳内の興奮性脳伝達物質^{※7}の産生やミクログリア^{※8}の活性化を抑制することを発見しました。

今回の成果は、HIE に対する Muse 細胞を用いた新規治療法開発に向け、大変有益な知見となります。この研究成果は、米国雑誌「Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism」（日本時間 2020 年 11 月 23 日付け）の電子版に掲載されました。

ポイント

- 周産期低酸素性虚血性脳症モデル動物（生後 7 日目のラット、ヒトの出生時に相当）に対して、免疫抑制剤を投与することなくヒト Muse 細胞の静脈内投与を行い、受傷後 5 か月（ヒトの成人に相当）もの長期間にわたる脳機能障害の改善効果を確認した。
- 投与されたヒト Muse 細胞は、受傷後 6 か月の時点でも損傷したラットの脳に生着したまま残存し、神経細胞に分化していることが確認された。
- Muse 細胞は、投与後早期に脳内における興奮性脳伝達物質の産生やミクログリアの活性化を抑制する作用を示した。
- 本研究結果は、HLA 適合や免疫抑制剤を必要としないドナー由来の Muse 細胞の点滴投与が周産期低酸素性虚血性脳症に対して有効であることを示し、新規治療法を開発する上で有用な知見となる。

1. 背景

周産期医療の目覚ましい進歩により、新生児の生存率は飛躍的に向上しています。しかしながら、脳性麻痺児の発生率が減少していないなど、神経学的予後は未だ改善されていません。神経学的障害を来す原因の一つとして、周産期低酸素性虚血性脳症（HIE）が挙げられます。HIE は、出生前後に脳への血流が遮断され低酸素に陥ることで引き起こされ、脳性麻痺、精神発達遅滞、てんかんなどの様々な脳障害、さらに最重症の場合は新生児死亡を引き起こします。現在、HIE に有効な治療法は低体温療法のみですが、重症の場合には十分な効果が期待できません。したがって、HIE の新しい治療法の開発は、周産期医療における急務の課題です。

近年、幹細胞を用いた細胞療法/再生医療が、様々な疾患に対して臨床応用されてきています。当研究グループでは、Multilineage-differentiating stress enduring cells（Muse 細胞）という細胞に注目し、HIE に対する新規治療法を開発を行っています。Muse 細胞は、多能性幹細胞マーカー（SSEA-3）陽性の細胞で、ヒトの骨髄、皮膚、脂肪、結合組織など様々な組織に存在している幹細胞です。幹細胞の一種である間葉系幹細胞^{※9}にも数パーセントの割合で含まれております。Muse 細胞は、体内の様々な種類の細胞に分化することができ、腫瘍化のリスクが低く、低酸素などのストレスにも耐性があります。しかも、胎盤に類似する特殊な免疫抑制作用も有しており、免疫拒絶反応のリスクが低く、静脈内に投与するだけで自発的に損傷した臓器に移動・集積し、組織を修復することができます。現在国内では、脳卒中、急性心筋梗塞、表皮水疱症、脊髄損傷などの成人疾患に対して、ヒト白血球抗原（HLA）^{※10} 適合や免疫抑制剤投与を行うことなく、ドナー由来の Muse 細胞を点滴で投与する治験が行われています。したがって、HIE のような低酸素に伴う脳損傷に対しても、Muse 細胞は自発的に損傷した脳組織に移動し、神経細胞に分化して修復を行い、脳機能を改善させることができるのではないかと考え、当研究グループでは、HIE モデル動物を使用して、HIE に対する Muse 細胞の治療効果を検討しました。

2. 研究成果

研究チームは、ラットで作製した HIE モデル動物に対してヒト Muse 細胞の静脈内投与を行い、頭部画像検査や行動実験による評価、脳組織の評価を行いました（図 1）。尚、免疫抑制剤は一切投与していません。

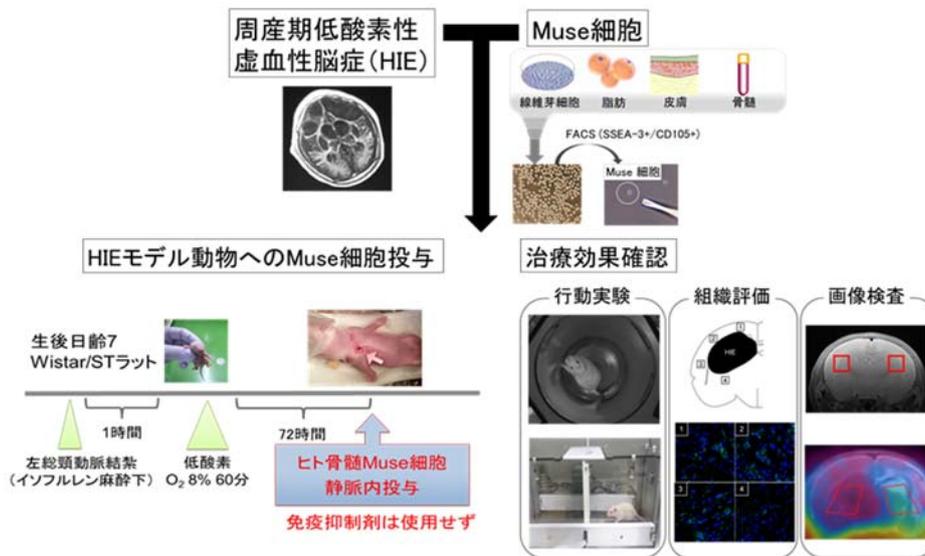


図 1

その結果、受傷後 1 か月、5 か月（ヒトの成人に相当）のいずれの時点でも、Muse 細胞を投与されたモデル動物（Muse 群）では、行動異常（多動性）の改善（Open-field test）、学習障害（Active avoidance test、Novel object recognition test）の改善、運動障害（麻痺）の改善（Cylinder test）を認めました（図 2）。

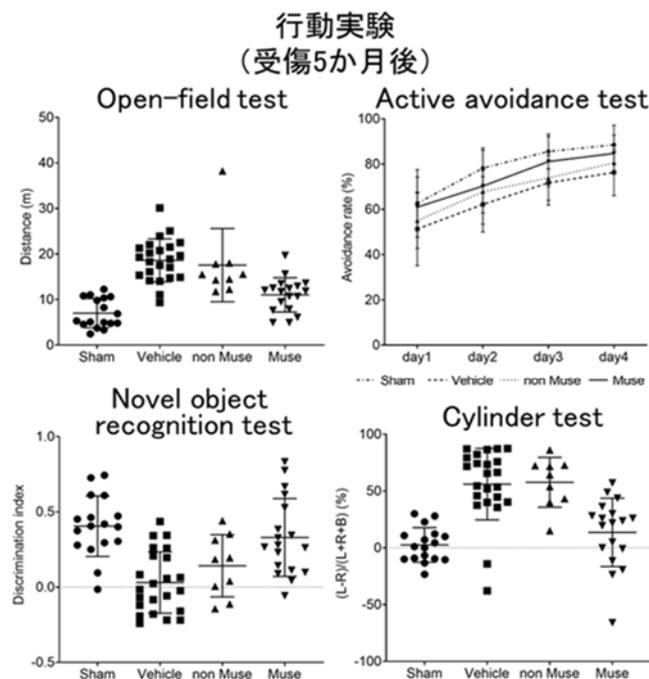
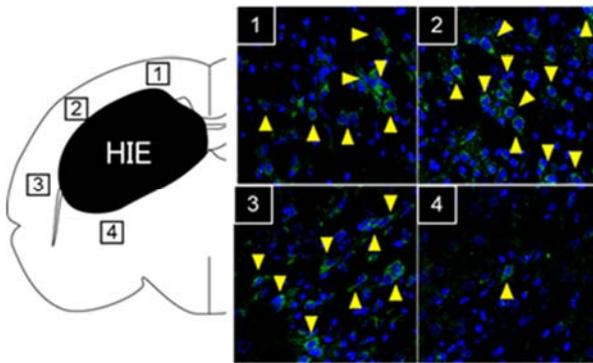


図 2

脳組織の評価では、免疫抑制剤を併用していないにもかかわらず、受傷後6か月もの長期間にわたって、Muse細胞が損傷を受けた脳組織周辺にのみ生着していること、さらに、ラットの脳内でヒト Muse細胞が神経細胞やグリア細胞に分化していることを確認しました（図3）。

Muse細胞を確認した部位



Muse細胞の分化確認

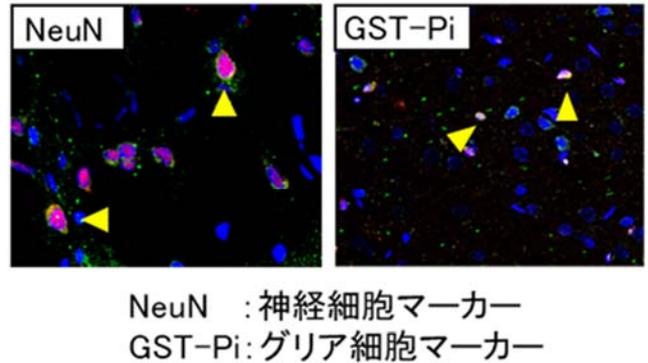


図3

しかも、脳内に Muse細胞が長期間生着していたにも関わらず、Muse細胞投与による副作用は認めず、腫瘍形成や死亡率の上昇もありませんでした。

また、Muse細胞投与から2日後の頭部画像検査の結果から、Muse群では脳内でグルタミン酸などの興奮性脳伝達物質の産生やミクログリアの活性化が抑制されていることが分かりました（図4）。

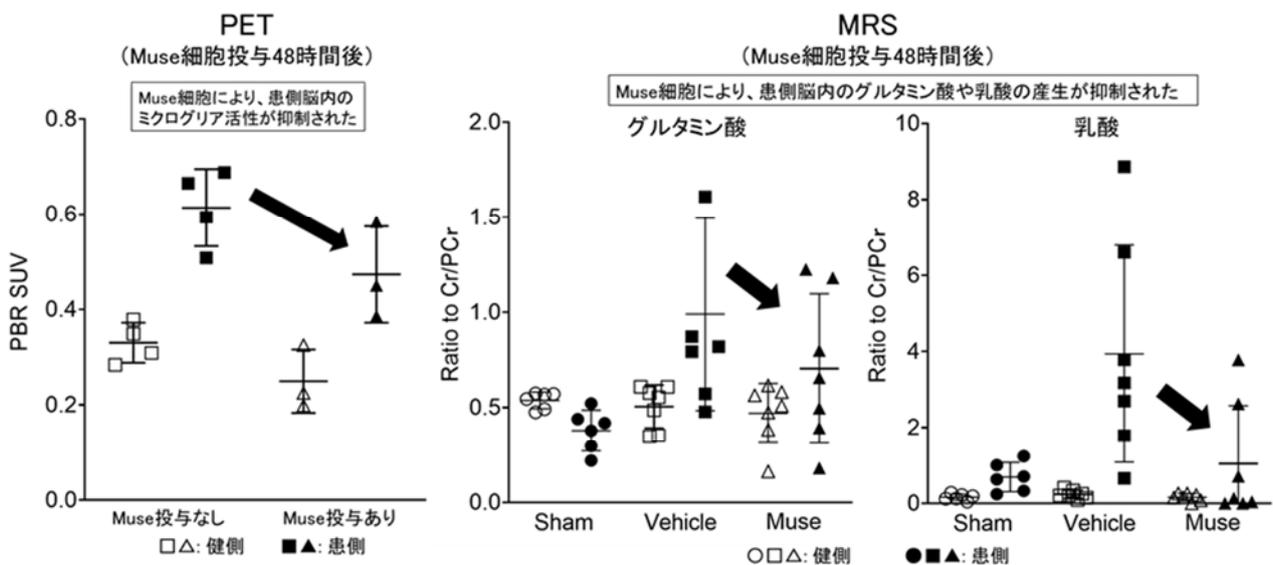


図4

さらに、ミクログリアの細胞を用いた実験でも、Muse 細胞とともに培養することにより、ミクログリアの活性化が抑制されることが示されました。

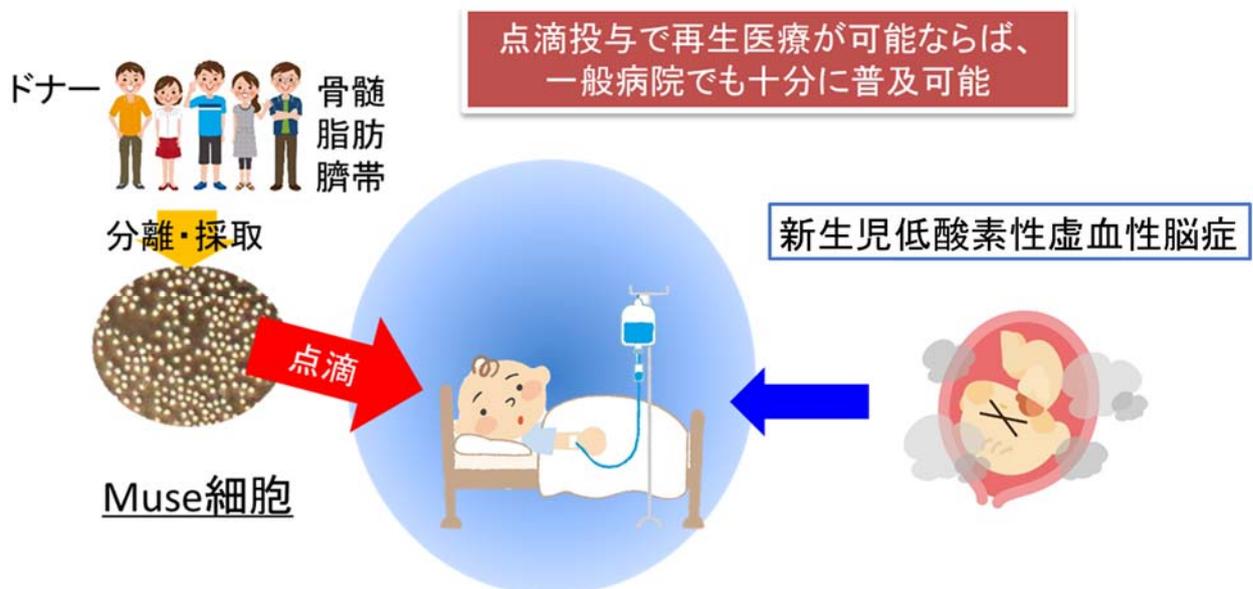
HIE の発症初期の段階では、低酸素に伴う脳虚血が生じると、嫌気性代謝（酸素を消費しないエネルギー代謝）が進行し、乳酸やグルタミン酸などが過剰産生され、不可逆的な神経細胞損傷が起こります。しかも、いったん神経損傷が起こると、脳内のミクログリアが活性化され、活性化したミクログリアがさらなる神経炎症、神経損傷を引き起こすという悪循環が生じます。Muse 細胞は、HIE によって生じる嫌気性代謝をブロックすることで神経細胞の損傷を抑え、さらにミクログリアの活性化を抑制することで、さらなる神経炎症、神経損傷の悪循環を抑える働きも持つ可能性が考えられます。

3. 今後の展開

今回の研究によって、Muse 細胞の静脈内投与は、HIE にとって新たな治療選択肢となることが示唆されました。Muse 細胞は、特殊な免疫抑制作用を持つため免疫拒絶反応のリスクを抑えることができ、ドナー由来の Muse 細胞を、免疫抑制剤を使用することなく安全に静脈内に投与することが可能です。現在、国内では心筋梗塞、脳梗塞、脊髄損傷などの成人の疾患に対して、ドナー由来の Muse 細胞製品を点滴で投与する臨床研究が進められています。今回の研究で得られた基礎的知見に基づき、現在名古屋大学医学部附属病院では、HIE に対しても Muse 細胞製品を使用した探索的医師主導治験を行っています。

4. 今後の展開

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業の若手研究（B）（課題番号：JP26860844）、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の橋渡し研究戦略的推進プログラム シーズ B（課題番号：JP16lm0103009、JP18lm0203008）の支援を受けて行われました。



5. 用語説明

- ※1 脳性麻痺：何らかの原因で受けた脳の損傷によって引き起こされる運動機能障害の総称
- ※2 低体温療法：脳が障害を受けた際に、脳保護のために体温を低く保つ治療法
- ※3 多能性：生体の様々な細胞、組織に変化することができる能力
- ※4 幹細胞：分裂して自分と同じ細胞を作る能力（自己複製能）と、特定の働きをする細胞に分化する能力（多分化能）を合わせ持つ細胞
- ※5 分化誘導：遺伝子導入や化合物による処理などの方法で、幹細胞をさまざまな機能や形態を持つ細胞に変化させること
- ※6 生着：移植した細胞や組織、臓器が正常に機能している状態
- ※7 興奮性脳伝達物質：神経細胞で生産され、標的細胞に興奮性の応答反応を引き起こす化学物質。
- ※8 ミクログリア：脳内に存在するグリア細胞（神経細胞以外の細胞）の一種で、神経組織が傷害を受けた際に活性化し、神経傷害と保護に関与する細胞
- ※9 間葉系幹細胞：幹細胞の一種で、骨、血管、筋、脂肪など中胚葉由来の組織に分化できる能力をもつ細胞。外胚葉由来の神経細胞やグリア細胞、内胚葉由来の肝細胞などにも分化できる可能性をもつ。
- ※10 ヒト白血球抗原（HLA）：白血球をはじめとする細胞の型。自己と非自己（ウイルスや細菌など）を識別し、免疫機構に重要な役割を果たしている。

5. 発表雑誌

掲雑誌名：Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism

論文タイトル：Intravenously delivered Multilineage-differentiating stress enduring cells dampen excessive glutamate metabolism and microglial activation in experimental perinatal hypoxic ischemic encephalopathy

著者：Toshihiko Suzuki^{1,2}, Yoshiaki Sato^{1*}, Yoshihiro Kushida³, Masahiro Tsuji⁴, Shohei Wakao³, Kazuto Ueda^{1,2}, Kenji Imai⁵, Yukako Iitani⁵, Shinobu Shimizu⁶, Hideki Hida⁷, Takashi Temma⁸, Shigeyoshi Saito⁸, Hidehiro Iida⁸, Masaaki Mizuno⁶, Yoshiyuki Takahashi², Mari Dezawa³, Cesar V. Borlongan^{9*}, Masahiro Hayakawa¹

所属：1. Division of Neonatology, Center for Maternal-Neonatal Care, Nagoya University Hospital, Nagoya, Japan

2. Department of Pediatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

3. Department of Stem Cell Biology and Histology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan

4. Department of Regenerative Medicine and Tissue Engineering, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan

5. Department of Obstetrics and Gynaecology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan.

6. Department of Advanced Medicine, Nagoya University Hospital, Nagoya, Japan

7. Department of Neurophysiology and Brain Sciences, Nagoya City University Graduate School

of Medical Sciences, Nagoya, Japan

8. Department of Bio-medical Imaging, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan

9. Department of Neurosurgery and Brain Repair, University of South Florida Morsani College of Medicine, Tampa, Florida, USA

DOI : 10.1177/0271678X20972656

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Cere_Blo_Flo_201124en.pdf