ペリサイトの起源と脳組織再生への関与

松山 知弘^{1*}，中込 隆之^{1,2}

要 旨

我々は、マウス脳梗塞モデルを用いて脳虚血傷害時に特異的に産生される血管壁細胞由来多能性幹細胞の存在を見出し、虚血ペリサイト (ischemic pericyte: iPC)・虚血傷害誘導性多能性幹細胞 (ischemic injury-induced multipotent stem cell: iSC) と命名した。この幹細胞は、すでにヒトでも同定されており、神経機能単位である neurovascular unit を構成するすべての細胞に分化しうるため脳梗塞後の脳組織そのものの修復機構に関与する可能性がある。正常脳に存在するペリサイト自身は幹細胞ではないが、潜在的な多能性幹細胞として組織修復に関わる可能性があるため、今後の脳梗塞をはじめとした中枢神経疾患の治療に活用できると考えている。

(脳循環代謝 30: 71~75, 2018)

キーワード： ペリサイト、潜在的な多能性幹細胞、脳梗塞、脳修復

ペリサイトについて述べる。

はじめに

脳血管周皮細胞 (ペリサイト) は内皮細胞と基底膜を介して接する血管壁細胞であるが、近年 blood brain barrier の構成細胞として、neurovascular unit の機能維持に重要な役割を果たすことが報告されている¹⁾。また、その発生学的な起源のひとつが神経堤 (neural crest) であることから多能性幹細胞としての特性を有することも報告されている²⁾。しかしながら、脳虚血などの病態時におけるペリサイトの役割は明らかではない。

我々は、脳虚血負荷を受けたペリサイト (ischemic pericyte: iPC) が血管内皮細胞やミクログリアにも分化しうる多能性幹細胞 (ischemic injury-induced multipotent stem cell: iSC) としての特性を獲得することを示してきた³⁾。本稿では、脳血管ペリサイトの虚血病態における役割に関して、病態時の幹細胞化という現象をふまえ、脳組織修復機構に関与する幹細胞としての脳血管

脳血管ペリサイトの起源

脳血管ペリサイトは、神経管 (neural tube) 細胞が epithelial-mesenchymal transition (EMT) により転換した neural crest を起源とするという説が有力である⁴⁾。一方、血液発生学の分野では、初期中胚葉細胞由来の血管と血球双方に分化する hemangioblast が前駆細胞を経由してそれぞれ内皮細胞とペリサイトになるとされている⁵⁾。したがって、ペリサイトには少なくとも2つの起源がある可能性がある。しかし、これらの説は胎生期発生段階では証明されているが、成体で同様の細胞群があるか、系譜が存在するかどうかは不明である (Fig. 1A)。

現在のところ、ペリサイトは中胚葉 (mesoderm) 由来あるいは neural crest 由来のものがあるが、neural crest 細胞自身も幹細胞としての性質を持っており、間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell: MSC) のひとつの起源であることが報告されているため、ペリサイト、neural crest stem, MSC には共通の分子マーカーが存在するのみならず、この3者間ではそれぞれ移行型が存在するといわれている (Fig. 1B)。

¹ 兵庫医科大学先端医学研究所先進脳治療学

² 兵庫医科大学先端医学研究所神経再生研究部門

*〒663-8501 兵庫県西宮市武庫川町 1-1

TEL: 0798-45-6821 FAX: 0798-45-6823

E-mail: tomohiro@hyo-med.ac.jp

doi: 10.16977/cbfm.30.1_71

Fig. 1. ペリサイトの起源(文献3より引用)

A : ペリサイトは、胎生期神経管外胚葉の一部がepithelial-mesenchymal transitionで間葉系細胞となったneural crest由来であるとする説。B : ペリサイトはneural crest由来と中胚葉～hemangioblast由来の2系列があり、中胚葉～mesenchymal stem cellとの3者間ではそれぞれ移行型が存在する。

脳血管ペリサイトの微細形態

そこで、胎生期の脳血管の微細形態を電顕で観察すると、成体では内皮細胞と基底膜をはさんで直接接しているペリサイトが同定できるが、胎生期17日目の血管ではこの両者は形態的に極めて似ている(Fig. 2)。したがって、成体脳と胎生期脳ではペリサイトの特性、機能がかなり異なることが推測される。

実際、幹細胞マーカーであるNestinの発現をみると、Nestinは胎生期のペリサイトでは発現しているが(Fig. 2, PC)、週齢を重ねるとともに減少し、生後1週間目以降、成体脳になると消失することが示されている⁶⁾。

脳血管ペリサイト幹細胞能の推移

発生学的にはペリサイトと軟膜血管には連続性がある⁷⁾。胎仔の軟膜を神経幹細胞培地で培養すると、ニューロンとオリゴデンドロサイトに分化するニューロスフィア様のspheroidができる。このspheroidは成体脳の軟膜からは全くできないが、成体脳の梗塞部か

ら採取した軟膜からはspheroidができる。この軟膜血管周囲の細胞がNestin陽性であることから、できた幹細胞は髄膜血管周囲のNestin陽性細胞由来であり、ペリサイトを含む血管壁細胞であることが示唆される。

これらの所見より、ペリサイトの幹細胞特性を発生学的に時系列でみると、胎生期から生後1週間目までは幹細胞としての能力はあるが、成体になると消失する。このことは成体脳の正常のペリサイトは幹細胞ではなく、一方虚血負荷がかかったペリサイトではこの幹細胞性が復活することが示唆される(Fig. 3)。

ヒトペリサイト由来幹細胞の同定

ペリサイトでのNestin発現は脳梗塞の病理脳でも確認されており⁸⁾、ヒト梗塞巣のペリサイトが多能性幹細胞としての特性を持った細胞であることがすでに証明されている⁴⁾。これまで、我々はマウス脳梗塞モデルを用いて、ペリサイト由来の虚血傷害誘導性多能性幹細胞(ischemia-induced multipotent stem cells: iSC)は神経系のみならず血管内皮細胞などの血管細胞系、ミクログリアなどの血液細胞系、骨細胞や脂肪細胞を含む間葉系細胞に分化することを証明してきたが^{9,10)}、こ

Fig. 2. 胎生期の脳血管の微細形態

胎生期 17 日目のマウス大脳皮質の免疫電顕像。電子密度の高い Nestin 陽性構造は血管内皮細胞 (EC) に接するペリサイト (PC) に観察される。胎生期のペリサイトは Nestin を発現していることがわかる。

脳血管ペリサイト幹細胞能の推移

Fig. 3. 脳血管ペリサイト幹細胞能の推移

の iSC がヒト脳でも証明されたことで iSC を利用した新たな脳の再生治療戦略が生み出される可能性があるものと思われる。

成体幹細胞における間葉系・幹細胞マーカー発現の差異

iSC と他の成体組織幹細胞 (MSC や ADSC など) の遺伝子発現プロファイルをみてみると、共通点もある

成体幹細胞における間葉系・幹細胞マーカー発現の差異 (PCR 解析)

Fig. 4. 成体幹細胞における間葉系・幹細胞マーカー発現の差異(PCR 解析)

マウスの正常ペリサイト株(nPCs), 虚血ペリサイト/虚血障害誘導性多能性幹細胞(iPC/iSCs), 脂肪組織由来幹細胞(ADSC), 骨髄由来間葉系肝細胞(MSC)の遺伝子プロファイルを示す。すべての細胞でペリサイトマーカー, neural crest, 間葉系マーカーの発現がみられるが, Nestin と Sox2 を強く発現しているのは iPC/iSC のみである。

が, 幹細胞(神経幹細胞: Nestin, Sox2)マーカー 2 つを強く発現しているのは iSC のみであった(Fig. 4)。このことから, iPC/iSC は間葉系幹細胞の性質を持つ一方で, 上皮系の要素をより強く持つ neural crest に近い幹細胞であることが示唆される。

おわりに

虚血負荷を受けたペリサイト(iPC)が多能性幹細胞(iSC)であることはすでにその作製追試実験によって確認されている¹¹⁾。我々の発見した iPC/iSC により, 脳血管のペリサイトは潜在的な多能性幹細胞として脳障害時に組織修復に関与することが示唆された。このことは, 元々成体に存在する体性幹細胞ではなく, 体細胞が幹細胞化して傷害後の修復に備えるという新たな概念の構築につながる可能性もある。今後, さらに, ペリサイトの役割を検討することで脳卒中の病態理解と治療法が進歩することが大いに期待される。

本論文の発表に関して, 開示すべき COI はない。

文 献

1) Armulik A, Genové G, Mäe M, Nisancioglu MH, Wallgard E, Niaudet C, He L, Norlin J, Lindblom P, Strittmatter K, Johansson BR, Betsholtz C: Pericytes regulate the blood-

brain barrier. *Nature* 468: 557–561, 2010

- 2) Dore-Duffy P, Katychew A, Wang X, Van Buren E: CNS microvascular pericytes exhibit multipotential stem cell activity. *J Cereb Blood Flow Metab* 26: 613–624, 2006
- 3) Nakagomi T, Kubo S, Nakano-Doi A, Sakuma R, Lu S, Narita A, Kawahara M, Taguchi A, Matsuyama T: Brain vascular pericytes following ischemia have multipotential stem cell activity to differentiate into neural and vascular lineage cells. *Stem Cells* 33: 1962–1974, 2015
- 4) Tatebayashi K, Tanaka Y, Nakano-Doi A, Sakuma R, Kamachi S, Shirakawa M, Uchida K, Kageyama H, Takagi T, Yoshimura S, Matsuyama T, Nakagomi T: Identification of multipotent stem cells in human brain tissue following stroke. *Stem Cells Dev* 26: 787–797, 2017
- 5) Rolny C, Lu L, Agren N, Nilsson I, Roe C, Webb GC, Welsh M: Shb promotes blood vessel formation in embryoid bodies by augmenting vascular endothelial growth factor receptor-2 and platelet-derived growth factor receptor-beta signaling. *Exp Cell Res* 308: 381–393, 2005
- 6) Nakano-Doi A, Nakagomi T, Sakuma R, Takahashi A, Tanaka Y, Kawamura M, Matsuyama T: Expression patterns and phenotypic changes regarding stemness in brain pericytes in health and disease. *J Stem Cell Res Ther* 6: 332, 2016
- 7) Zhang ET, Inman CB, Weller RO: Interrelationships of the pia mater and the perivascular (Virchow-Robin) spaces in the human cerebrum. *J Anat* 170: 111–123, 1990

- 8) Nakayama D, Matsuyama T, Ishibashi-Ueda H, Nakagomi T, Kasahara Y, Hirose H, Kikuchi-Taura A, Stern DM, Mori H, Taguchi A: Injury-induced neural stem/progenitor cells in post-stroke human cerebral cortex. *Eur J Neurosci* 31: 90–98, 2010
- 9) Nakagomi T, Taguchi A, Fujimori Y, Saino O, Nakano-Doi A, Kubo S, Gotoh A, Soma T, Yoshikawa H, Nishizaki T, Nakagomi N, Stern DM, Matsuyama T: Isolation and characterization of neural stem/progenitor cells from post-stroke cerebral cortex in mice. *Eur J Neurosci* 29: 1842–1852, 2009
- 10) Sakuma R, Kawahara M, Nakano-Doi A, Takahashi A, Tanaka Y, Narita A, Kuwahara-Otani S, Hayakawa T, Yagi H, Matsuyama T, Nakagomi T: Brain pericytes serve as microgliagenerating multipotent vascular stem cells following ischemic stroke. *J Neuroinflammation* 13: 57, 2016
- 11) Gouveia A, Seegobin M, Kannangara TS, He L, Wondisford F, Comin CH, Costa LF, Béique JC, Lagace DC, Lacoste B: The aPKC-CBP pathway regulates post-stroke neurovascular remodeling and functional recovery. *Stem Cell Reports* 9: 1735–1744, 2017

Abstract

Brain pericytes, their origin and possible contribution to CNS repair

Tomohiro Matsuyama¹ and Takayuki Nakagomi^{1,2}

¹Department of Therapeutic Progress in Brain Diseases Institute for Advanced Medical Sciences,
Hyogo College of Medicine, Hyogo, Japan

²Laboratory of Neurogenesis and CNS Repair, Institute for Advanced Medical Sciences,
Hyogo College of Medicine, Hyogo, Japan

Brain vascular pericytes (PCs) which localized in association with the endothelial cells via basal membrane play an important role in maintaining blood-brain barrier (BBB) function and may have multipotent stem cell activity to differentiate into a variety types of cells. Brain PCs are suggested to be neural crest derivatives but in another aspect they derive from the mesodermal cells through hemangioblast of the embryonal stage. Although the precise role of PCs on central nervous system (CNS) injury has not been elucidated, we have demonstrated that PCs can be reprogrammed into multipotent stem cells in response to ischemia/hypoxia, suggesting that the PCs under ischemic condition such as cerebral infarction (ischemic PCs: iPCs) contribute to CNS repair as ischemic injury-induced multipotent stem cells (iSCs) to differentiate into both neural and vascular lineage cells. Because iPC/iSCs express predominantly Nestin and Sox2, neural stem cell markers, they can play an essential role in the reparative process of neurovascular unit in CNS. Our findings may indicate a new concept that the PCs may function as latent multipotent stem cells under diseased, but not normal, condition of CNS.

Key words: pericytes, latent multipotent stem cells, cerebral infarction, brain repair